ميكروبيولوجيا تطبيقية

Book · March 2014

1 author:

Rashed Zaghloul
Faculty of Agriculture, Benha Univ.

ميكروبيولوجيا تطبيقية

Applied Microbiology



تأليف

أ.د/ راشد عبدالفتاح زغلول

أستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجي

كلية الزراعة–جامعة بنـها

٢٠١٨–٢٠١٩ م

ميكروبيولوجيا تطبيقية-٥٤٥ صفحة

تأليف

د/ راشد عبدالفتاح زغلول

رقم الإيداع بدار الكتب بالقاهرة

٢٠١٤/٥٢٨٥

الترقيم الدولي للكتاب

٩٧٨-٩٧٧-٩٠-١٥٢٦-٢

مطبعة مركز الهدى – أمام كلية الطب البيطرى بمشتهر

المؤلف فى سطور



أ. د/ راشد عبدالفتاح زغلول

من مواليد محافظة القليوبية عام١٩٦٤م ، حصل على درجة الدكتوراه في العلوم الزراعية تخصص "ميكروبيولوجيا زراعية "عام١٩٩٣م من جامعة الزقازيق – فرع بنها ، تدرج فى وظائف هيئة التدريس بالجامعة إلى أن أصبح أستاذ لعلم الميكروبيولوجى بكلية الزراعة جامعة بنها عام ٢٠٠٥ م، عمل محاضرا فى الجامعات المصرية وشارك فى الإشراف على ٥٢ رسالة ماجستير ودكتوراه ، شارك في مناقشة ٣٥ رسالة ماجستير ودكتوراه بكليات الزراعة والعلوم بالجامعات المصرية المختلفة ، وله ٧٠ بحثاً منشوراً فى مجالات الميكروبيولوجيا المختلفة، عضو فى عدة جمعيات علمية منها "الميكروبيولوجيا التطبيقية و"النباتية المصرية" و"النباتية التطبيقية"، عضو محكم فى عدة لجان علمية بالمركز القومي للبحوث ومركز بحوث الصحراء ، عضو اللجنة العلمية الدائمة بالمجلس الأعلى للجامعات (الكيمياء الحيوية –الميكروبيولوجيا – الوراثة) ٢٠١٣- ٢٠١٦لترقية الأساتذة والأساتذة المساعدين ، رئيس قسم النبات من ٢٠١٦/٨/١ م حتي ٢٠١٨/٨/٣ م ثم رئيس قسم الميكروبيولوجي اعتبارا من ٢٠١٨/٩/١ م ، ومن مؤلفاته ما يلي:

١-الميكروبيولوجي لطلاب المدارس الثانوية الزراعية.

٢-ميكروبيولوجيا الأراضي.

٣-الكائنات الحية الدقيقة فى خدمة الإنسان.

٤- تدوير المخلفات وإعادة استخدامها.

٥-أساسيات الميكروبيولوجيا الزراعية .

٦-التلوث البيئي... مشكلات وحلول.

٧-أسس ومقومات الزراعة العضوية.

المحتويات

المقدمة

من المعروف أن الكائنات الحية الدقيقة تلعب دورا هاماً فى حياتنا اليومية، ولقد أصبح عالم الكائنات الحية الدقيقة يمثل اهتماماً متزايدًا سواء على المستوى المحلى أو العالمى وذلك بسبب الأدوار المختلفة التى تقوم بها هذه الكائنات الحية فى الأوساط البيئية المختلفة سواء فى التربة أو المياه أو الأغذية أو الألبان،

والكائنات الحية الدقيقة تقوم بالعديد من العمليات الميكروبيولوجية المفيدة للتربة والنبات مثل معدنة المواد العضوية التي يترتب عليها تيسر العناصر الغذائية اللازمة لتغذية النبات ، تثبيت أزوت الهواء الجوي ، القدرة علي إفراز الكثير من المواد المشجعة للنمو والحفاظ علي استمرارية دورات العناصر في الطبيعة وقدرتها علي التخلص من الملوثات البيئية المختلفة.

ومما هو جدير بالذكر إن العديد من هذه الكائنات الحية الدقيقة لها القدرة على إنتاج العديد من المواد ذات الأهمية الحيوية مثل المضادات الحيوية والإنزيمات والأحماض الأمينية والكحولات والفيتامينات والهرمونات النباتية أيضاً ، تساهم الكائنات الحية الدقيقة فى تصنيع الكثير من الأغذية مثل الألبان المتخمرة والمخبوزات ومن المتوقع أن تساهم هذه الكائنات فى العصر الحالى فى المساهمة فى مشكلة نقص البروتين والطاقة.

ولقد اشتمل هذا الكتاب علي إحدى عشر فصلاً، ولقد تناول الفصل الأول علاقة الكائنات الحية الدقيقة بخصوبة التربة الزراعية من حيث تحلل المواد العضوية الكربونية المختلفة بواسطة الكائنات الحية الدقيقة وانطلاق العناصر الغذائية في صورة ميسرة لامتصاص النباتات.

أما الفصل الثاني فقد تناول دور الكائنات الحية الدقيقة فى تحولات عنصر النيتروجين من حيث عمليتي النشدرة والتأزت ، كذلك تناول هذا الفصل الميكروبات المثبتة لنيتروجين الهواء الجوي من حيث الأنواع المثبتة للنيتروجين وميكانيكية تثبيت نيتروجين الهواء الجوي.

ولقد تناول الفصل الثالث الميكروبات المذيبة للفوسفات وعلاقة ذلك بخصوبة التربة، أيضا تناول هذا الفصل بالشرح والتوضيح أهمية الكائنات الحية

الدقيقة في معدنة وأكسدة مركبات الكبريت والحديد، كذلك تم التركيز علي ميكانيكيات تحلل بقايا المبيدات في التربة الزراعية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة والتخلص من أثارها السامة.

أما الفصل الرابع فقد تناول ميكروبيولوجيا المياه من حيث مصادر تلوث المياه وطرق تنقية المياه وتطهيرها ، كذلك اشتمل هذا الفصل علي كيفية تقدير صلاحية المياه للاستخدام الأدمي والأمراض التي تنتقل للإنسان عن طريق مياه الشرب الملوثة.

ولقد تناول الفصل الخامس ميكروبيولوجيا مياه المجاري من حيث أخطار مياه الصرف الصحي غير المعالج ، كذلك اشتمل هذا الفصل علي أنواع الميكروبات الممرضة الموجودة في مياه الصرف الصحي ، كذلك تناول هذا الفصل بالتوضيح طرق معالجة مياه الصرف الصحي وكيفية الاستفادة من مياه الصرف المعالجة.

أما الفصل السادس فقد تناول ميكروبيولوجيا الألبان ومنتجاتها من حيث مصادر تلوث اللبن وأنواع الميكروبات الموجودة باللبن ، كذلك تناول هذا الفصل بالشرح والتوضيح للميكروبات الممرضة التي تنتقل للإنسان عن طريق الألبان الملوثة أو من منتجاتها، أيضاً اشتمل هذا الفصل علي ميكروبيولوجيا الألبان المبسترة والمعقمة والمتخمرة والمكثفة والمجففة من حيث أنواع الميكروبات المفيدة بكل منها، وكذلك تناول هذا الفصل بالتوضيح ميكروبيولوجيا الجبن الطرية والنصف جافة والجافة من حيث أنواع الميكروبات بكل منها ، كذلك اشتمل هذا الفصل علي مصادر تلوث الجبن بالميكروبات الممرضة.

ولقد تناول الفصل السابع ميكروبيولوجيا الأغذية من حيث أنواع الميكروبات الموجودة بالأغذية، كذلك تناول هذا الفصل طرق حفظ الأغذية وأنواع الفساد في الأغذية والتسممات الغذائية المختلفة والأمراض التي تنتقل للإنسان عن طريق الأغذية الملوثة.

أما الفصلين الثامن والتاسع استخدام الكائنات الحية الدقيقة في إنتاج مواد ذات أهمية اقتصادية مثل الكحولات، الأحماض العضوية مثل حمض الخليك واللاكتيك والستريك والجلوكونيك والكوجيك والإيتاكونيك.

ولقد تناول الفصل العاشر استخدام الكائنات الحية الدقيقة فى إنتاج الأحماض الأمينية المختلفة من حيث الأهمية والميكروبات المنتجة وطرق إنتاج كل منها.

أما الفصل الحادي عشر فقد تناول إنتاج المضادات الحيوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة مثل البنسلين والإستربتوميسين والسيفالوسبورينات والجريسوفولفين من حيث الميكروبات المنتجة وطرق الإنتاج.

ولقد حرصت علي عرض المعلومات بسهولة ويسر وقد تم ذلك من خلال الاستعانة بمجموعة من المراجع العربية والإنجليزية والكتاب مزود بعدد وافر من الأشكال والرسومات التوضيحية لمساعدة القارئ علي فهم الموضوعات المختلفة المتعلقة بالميكروبيولوجيا التطبيقية والتي تفيد المهتمين بدراسة علم الأحياء الدقيقة سواء فى الجامعات أو المعاهد البحثية المختلفة.

ولقد روعي في هذا الكتاب أن يلم القارئ بما هو حديث في هذا العلم لكي نحقق ما يتطلع إليه وطننا العربى من تقدم ورقي، وإني لأدين بالفضل كل الفضل لله سبحانه وتعالى أولاً على أن وفقني فى إتمام هذا العمل ثم للذين تعلمت منهم وزودوني بخبراتهم ، وأذكر بكل الإجلال والاحترام من رحل منهم عنا ،كما أعترف بالجميل والعرفان لمن أخذت عنهم العلم وأدعو الله أن أكون قد وفقت في إعداد هذا الكتاب لكي يكون إضافة إلي المكتبة العربية لنشر العلم بين المهتمين بدراسة علوم الكائنات الحية الدقيقة ، وأسأل الله أن يفيد بهذا الجهد المتواضع كل من يعمل في مجالات علم الميكروبيولوجي المختلفة فى الوطن العربي.

المؤلف

الفصل الأول

ميكروبيولوجيا التربة

دور الكائنات الحية الدقيقة فى خصوبة التربة

يعتبر علم ميكروبيولوجيا التربة من أهم العلوم التى تهتم بدراسة العلاقات المتبادلة بين الكائنات الحية الدقيقة والتربة والنبات، ويرتبط هذا العلم ببعض العلوم الأخرى مثل علم الكيمياء الحيوية وعلوم البيئة وعلم كيمياء الأراضي ، ومن المعروف جيداً أن علم ميكروبيولوجيا الأراضي يعتبر من العلوم الحديثة التي بدأت دراستها في أوائل القرن العشرين، ولكن بسبب كثرة الأبحاث والدراسات المتعلقة بهذا العلم فقد ازدهر بسرعة كبيرة حيث أوضحت نتائج الأبحاث في هذا المجال طرق التعرف علي أنواع وأهمية الميكروبات التي تعيش في التربة، كذلك تم وضع وتحديد الأسس التي من خلالها يتم تحقيق الاستفادة القصوى من ميكروبات التربة النافعة وكيفية الحد أو التخلص من الأثار الضارة لهذه الميكروبات.

تتعدد أنواع المركبات العضوية التي يمكن للكائنات الدقيقة تحليلها مثل الأحماض العضوية، السكريات العديدة، اللجنين، الهيدروكربونات العطرية والأليفاتية، السكريات، الكحولات، الأحماض الأمينية، قواعد البيورين والبيريميدين، الليبيدات والأحماض النووية، حيث يمكن أن يهاجمها نوع أو أخر من الكائنات الحية الدقيقة.

تحلل المادة العضوية وانطلاق ثاني أكسيد الكربون

Decomposition of organic matter and CO_2 release

خلال مراحل تحلل المادة العضوية يمكن تمييز ثلاث عمليات منفصلة تسير جنبا إلي جنب، الأولى هي اختفاء الأنسجة النباتية والحيوانية بتأثير الإنزيمات الميكروبية، وفي نفس الوقت يتم تخليق خلايا ميكروبية جديدة فتظهر أنواع البروتين والسكريات العديدة والأحماض النووية الخاصة بالبكتريا والفطريات، أما العملية الثالثة فهي تكوين نواتج التمثيل الغذائي التي تفرزها الميكروبات والتي يمكن أن تتراكم في التربة وتكون ما يعرف بالدبال.

والدبال مادة غير محددة التركيب الكيميائي ولكن الدبال يعتبر مجموعة من المواد المعقدة في التركيب إلا أنه يحتوي علي كمية قليلة من المواد القابلة للذوبان في الماء مثل السكريات البسيطة والأحماض الأمينية ولكن معظم المواد الكيميائية الموجودة في الدبال لا تذوب في الماء وهي ذات لون داكن سمراء أو بنية اللون، وعموماً فإن المواد الدبالية توجد علي ثلاث صور هي:

١- حمض الهيوميك

وهذا الحمض يمكن استخلاصه بالمواد القلوية ويترسب من المستخلص من الأحماض.

٢- حمض الفولفيك

وهذا الحمض يمكن أن يستخلص أيضاً بالقلويات ولكن لا يترسب من المستخلص بالأحماض وبذلك يمكن فصله عن حمض الهيوميك.

٣- الهيومين

وهو الجزء من الدبال الذي لا يمكن استخلاصه من الدبال بالمواد القلوية.

أما عن أهمية الدبال في التربة فتتلخص في الأتي:

(١) يمثل الدبال مخزون الأرض من المادة العضوية.

(٢) المادة العضوية أو الدبال يقوم بدور هام في تحسين بناء التربة من خلال تجميع الحبيبات.

(٣) يحسن من التهوية في الأراضي الثقيلة.

(٤) يزيد من احتفاظ الأرض الخفيفة بالماء.

(٥) الدبال يعتبر ذو سعة تبادلية أيونية عالية مما يوفر الكثير من العناصر المغذية للنبات.

(٦) الدبال يزيد من قدرة الأرض التنظيمية.

(٧) الدبال يعمل علي تدفئة التربة مما يحسن من عملية الإنبات.

معدنة مركبات الكربون العضوية

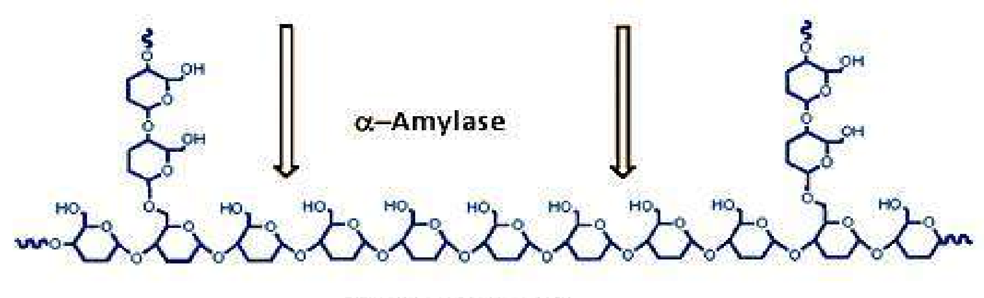
Mineralization of organic carbon compounds

النواتج الأساسية لمعدنة مركبات الكربون العضوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة تحت الظروف الهوائية هي CO_2 والماء وخلايا الميكروبات ومكونات الدبال، أما في غياب O_2 فإن التمثيل الغذائي للكربون العضوي يصبح تمثيلا غير كامل ينتج عنه تراكم المركبات الوسطية مثل الأحماض العضوية والكحولات والألدهيدات والكيتونات وانطلاق كميات كبيرة من CH_4 وكميات أقل من H_2، في نفس الوقت تكون الطاقة الناتجة أثناء التخمر اللاهوائى قليلة وينتج عن ذلك تكوين عدد قليل من الخلايا الميكروبية بالنسبة لوحدة الكربون التي يتم تحللها وتمثيلها. لذلك فإن تحلل المادة العضوية دائما ما يكون بطيئاً تحت الظروف اللاهوائية تماماً عنه في حالة توفر O_2، أما في ظروف تشبع التربة بالماء فإن معدل التحلل يكون بدرجة متوسطة بين هاتين الحالتين، ومما هو جدير بالذكر أن تحلل المواد العضوية بواسطة ميكروبات التربة المختلفة يتم أولا بإفراز الميكروبات إنزيمات خارجية أي في الوسط الذي تعيش فيه (التربة) حيث تقوم هذه الإنزيمات بتحليل المواد الكربوهيدراتية المعقدة إلي سكريات بسيطة تدخل إلي داخل خلايا الميكروب عن طريق الانتشار الغشائى عبر الغشاء السيتوبلازمي ثم تقوم الميكروبات بإفراز إنزيمات داخلية حيث تستطيع الميكروبات أن تستخدم مثل هذه السكريات كمصدر للكربون والطاقة لبناء خلاياها وجزء منها يدخل في تكوين مواد معقدة في التربة أو تدخل في تركيب الدبال وفيما يلى بعض الأمثلة لتحلل المواد العضوية الكربونية.

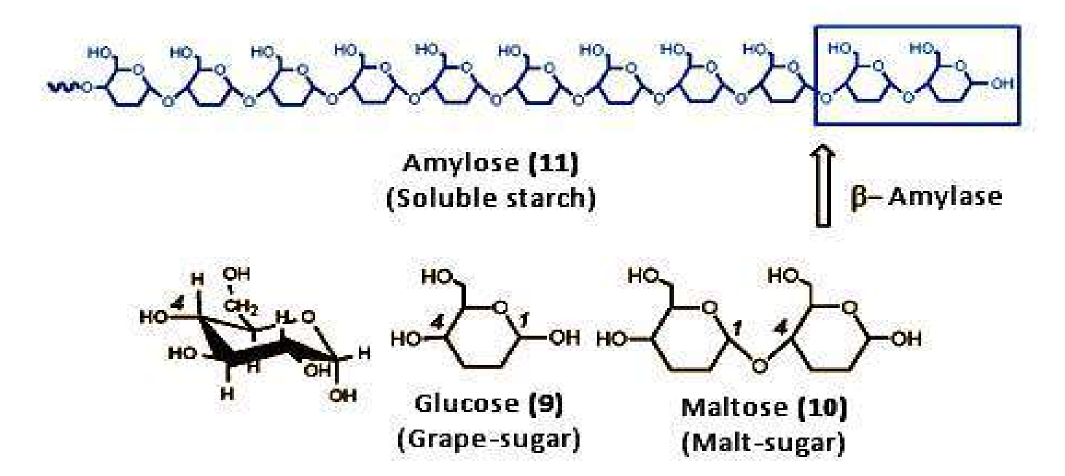
تحلل النشا Starch decomposition

يعتبر النشا من أكبر مركبات الكربون العضوية تواجدا بعد السليولوز في النباتات والذى يتكون من السكريات السداسية ، وهو أحد النواتج التي يقوم النبات بتخزينها ولذلك يعتبر المادة الكربوهيدراتية الأساسية المخزنة، ويكثر وجود هذه المادة بكميات كبيرة في أوراق النباتات التي تقوم بعملية التمثيل الضوئي، ويتكون نشا النباتات من نوعين من المركبات هما الأميلوز والأميلوبكتين، فالأول يتكون

أساسا من وحدات بنائية مستقيمة عبارة عن عدة مئات من وحدات الجلوكوز التي ترتبط مع بعضها بروابط من نوع ألفا (١-٤) جلوكوسيد بين ذرة الكربون الأولي لأحد وحدات الجلوكوز وذرة الكربون الرابعة لوحدة جلوكوز أخري، وترتبط أيضا وحدات الجلوكوز في الأميلوبكتين بواسطة روابط ألفا (١-٤) ولكن يتفرع الجزئ بحيث تتكون فيه سلاسل جانبية مرتبطة عن طريق روابط من نوع ألفا (١-٦) جلوكوسيد، وجزيء النشا كبير جداً حيث تصل عدد وحدات الجلوكوز في جزيء الأميلوز إلي ٢٠٠-٣٠٠ وحدة بينما جزيء الأميلوبكتين يتكون من وحدات جلوكوز أكثر من ٣٠٠ وحدة.



Amylopectin (12)
(Insoluble starch)



شكل(١-١): التركيب البنائى لجزىء النشا

وعند تعرض النشا لنشاط الميكروبات في التربة فإنه سرعان ما يختفي حيث يتحلل بسرعة أكبر من سرعة تحليل السليولوز والهميسليولوز والأنواع الأخرى من

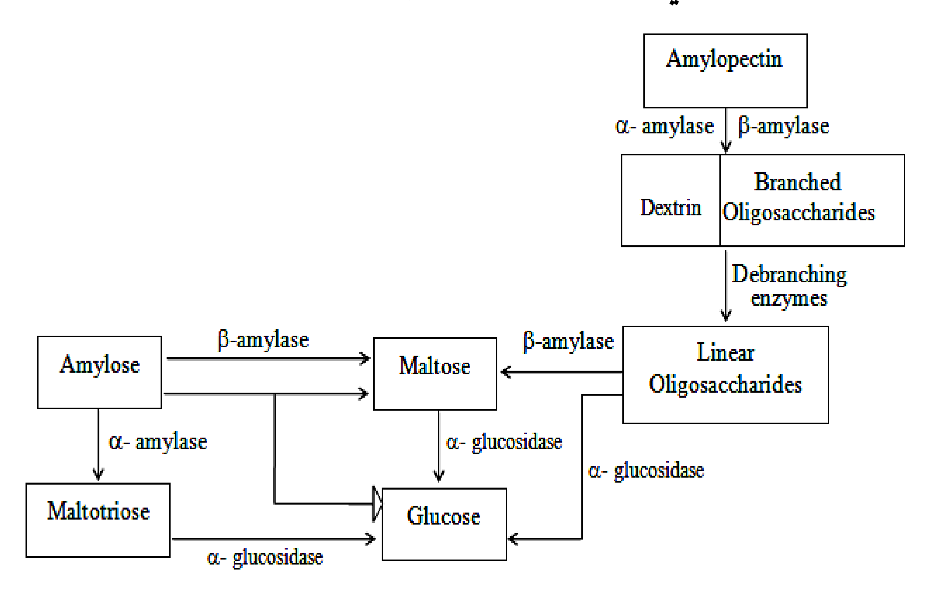
السكريات العديدة. وفي ظروف قلة وجود O_2 تحدث عمليات تخمير هذا المركب مع إنتاج كميات كبيرة من أحماض اللاكتيك والخليك والبيوتريك، وتستمر عملية التحلل إلي درجة كبيرة حتى تحت الظروف اللاهوائية تماما مع احتمال إنتاج الميثان، ويمكن إجمال القول بأن المواد الكربوهيدراتية تتحلل في الظروف الهوائية إلي ثاني أكسيد الكربون والماء, بينما التحلل لمثل هذه المواد يكون غير كامل حيث ينتج الأحماض العضوية والكحولات والغازات مثل CO_2 , H_2 and CH_4.

ولكل من البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات القدرة علي تحليل النشا مائيا، والتباين في الخواص الفسيولوجية للميكروبات النشطة يدل علي إمكانية حدوث التحلل تحت مختلف الظروف البيئية، ولقد وجد أن ٩٠٪ من مجموعات البكتريا مثل ***Bacillus, Clostridium, Micrococcus*** **and** ***Chromobacterium*** يمكنها أن تستخدم هذا السكر العديد كمصدر للكربون، وعادة ما تحتوى التربة علي أعداد من الميكروبات المحللة للنشا تتراوح بين $١٠^{٥}-١٠^{٧}$ أو أكثر في الجرام.

وأحياناً يكثر تواجد هذه الميكروبات بصفة خاصة في المنطقة القريبة من جذور النبات. كما أن السلالات المختلفة من ***Streptomyces*** يمكنها هي الأخرى استخدام هذه المادة الكربوهيدراتية. ويمكن لكثير من الفطريات مثل ***Aspergillus, Fusarium*** **and** ***Rhizopus*** أن تفرز الإنزيمات المناسبة لتحليل النشا مائياً.

وإنزيمات الأميليز تحلل النشا تحليلاً مائياً وهى عبارة عن إنزيمات خارجية وتوجد ثلاثة أنواع من إنزيمات الأميليز المتخصصة في تحليل النشا هي ألفا – أميلز وبيتا – أميليز وألفا جلوكوسيديز، وإنزيم **α–amylase** قادر على تكسير الروابط في السلاسل المستقيمة لكل من الأميلوز والأميلوبكتين عشوائيا ولكنه غير قادر على تكسير الروابط المتفرعة وبذلك فان ناتج تحلل النشا بواسطة هذا الإنزيم عبارة عن سلاسل من وحدات جلوكوز مختلفة في العدد (دكسترينات) وقليل من السكر الثلاثي المعروف بالمالتوتريوز، أما البيتا – أميليز **β–amylase** يعمل علي كل من الأميلوز والأميلوبكتين، فيقوم بتكسير الرابطة من أطراف الجزئ بحيث تعمل علي تكسير رابطة مع ترك الرابطة التالية لها وهكذا حتى يتكون في النهاية وحدات من السكر الثنائي المالتوز، ولكن هذا الإنزيم غير قادر علي تحليل نقاط التفرع في

الأميلوبكتين تحليلا مائيا فيبقي بعد انتهاء التحلل أجزاء من الدكسترين بالإضافة إلي السكر الثنائي، ولما كان هذا الإنزيم غير قادر علي تكسير نقاط التفرع عند الرابطة $\alpha-1,6$ glucosidic linkage فإن هذا سوف يؤدي إلي تراكم الدكسترينات المحتوية علي التفرعات التي تتحلل بواسطة إنزيمات أخرى. ثم يقوم إنزيم ألفا-جلوكوسيديز $\alpha-1,4$ glucosidase (gamma amylase) بفصل وحدات الجلوكوز من أطراف الجزئ ومن المالتوز، وبذلك يكون الجلوكوز هو الناتج النهائي لتحلل النشا حيث يمر إلي داخل الخلية الميكروبية.



شكل(١-٢): خطوات تحلل جزئ النشا

وفيما يلي التقسيم العلمي للبكتريا المحللة للنشا

Scientific classification

Domain:Bacteria

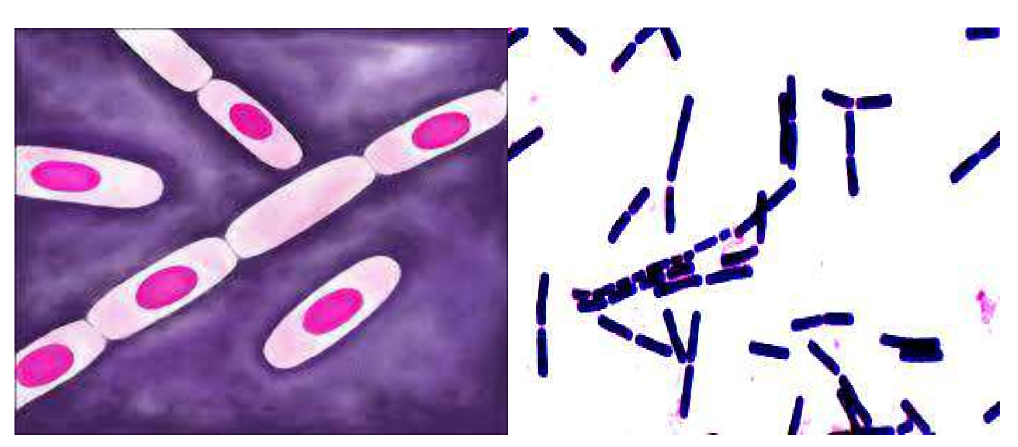
Phylum:Firmicutes

Class:Bacilli

Order:Bacillales

Family:Bacillaceae

Genus:*Bacillus* **Species:*Bacillus* sp.**



شكل (١-٣):.*Bacillus* sp

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Firmicutes

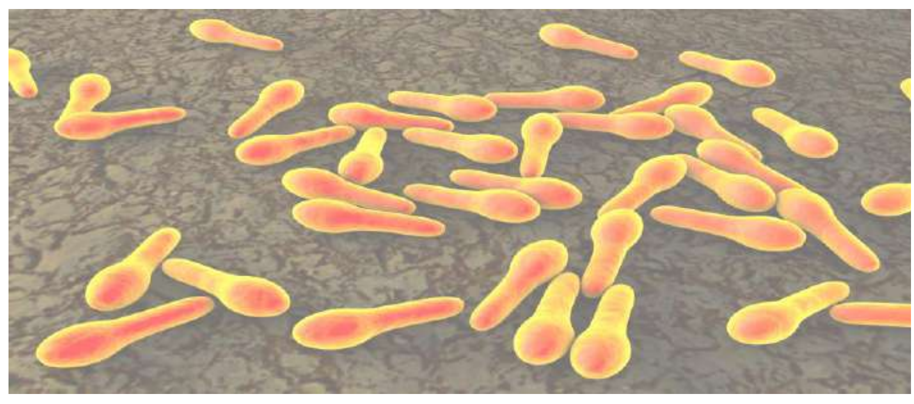
Class:Clostridia

Order:Clostridiales

Family:Clostridiaceae

Genus:*Clostridium*

Species:*Clostridium* sp.



شكل (١-٤): بكتريا .*Clostridium* sp

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Class:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Suborder:Micrococcineae

Family:Micrococcaceae

Genus: *Micrococcus* **Species:*Micrococcus* sp.**



شكل (١-٥): بكتريا *Micrococcus* sp.

Scientific classification

Domain:Bacteria

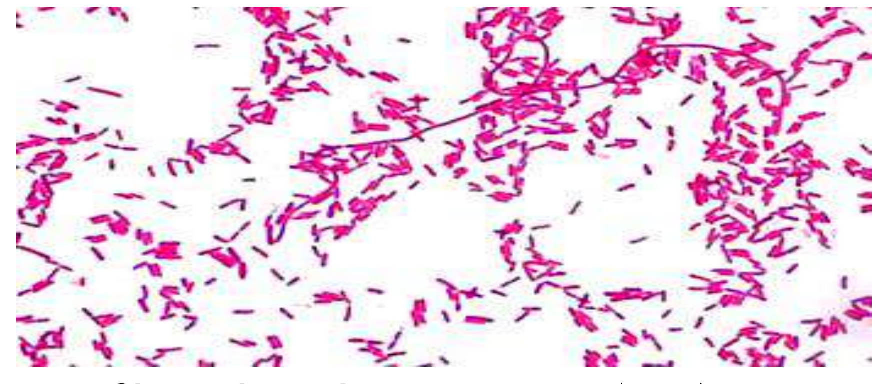
Phylum:Proteobacteria

Class:Betaproteobacteria

Order:Neisseriales Family:Neisseriaceae

Genus:*Chromobacterium*

Species:*Chromobacterium* sp.



شكل (١-٦):بكتريا *Chromobacterium* sp.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

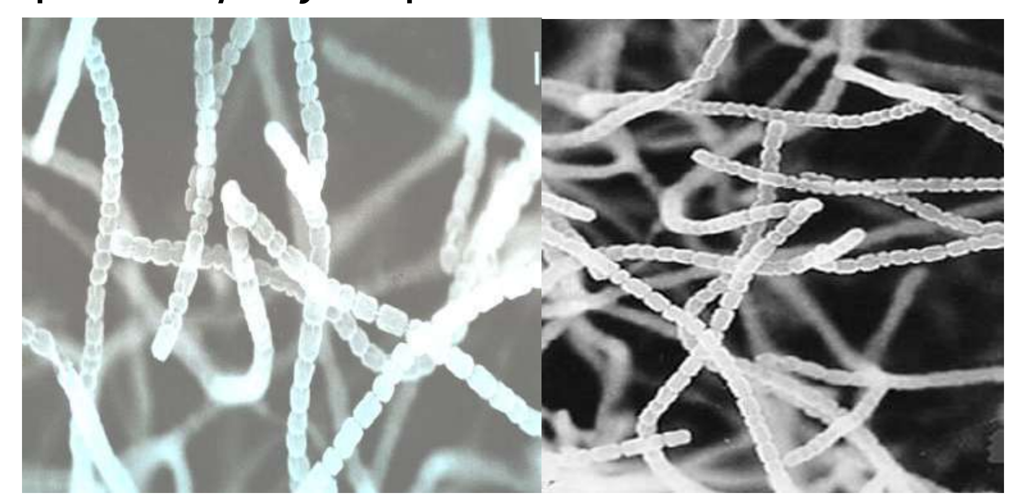
Class:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Family:Streptomycetaceae

Genus:*Streptomyces*

Species:*Streptomyces* sp.



شكل (١-٧): بكتريا *Streptomyces* sp.

وفيما يلي التقسيم العلمي للفطريات المحللة للنشا

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum :Ascomycota

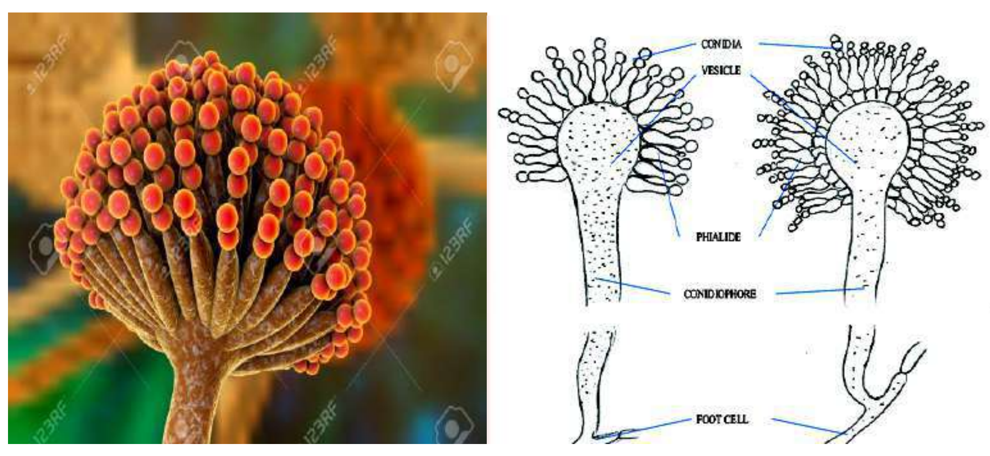
Class:Eurotiomycetes

Order:Eurotiales

Family:Trichocomaceae

Genus:*Aspergillus*

Species:*Aspergillus* sp.



شكل (١-٨): فطر. ***Aspergillus*** **sp.**

Scientific classification

Kingdom:Fungi

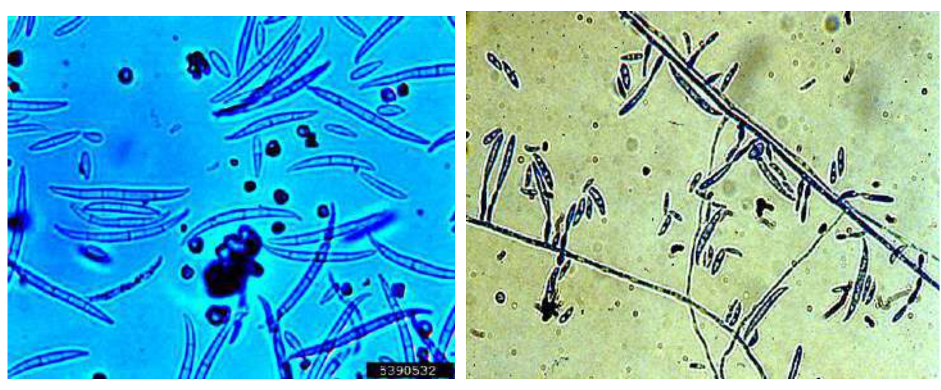
Phylum:Ascomycota

Class:Sordariomycetes

Order:Hypocreales

Family:Nectriaceae

Genus:*Fusarium* **Species:*Fusarium* sp.**



شكل (١-٩): فطر ***Fusarium*** **sp.**

Scientific classification

Kingdom:Fungi

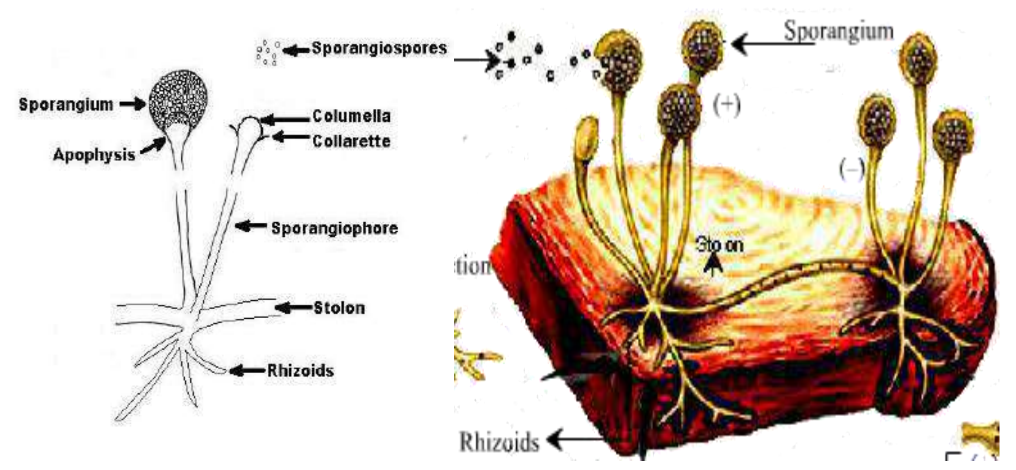
Phylum:Zygomycota

Class:Mucoromycotina

Order:Mucorales

Family:Mucoraceae

Genus:*Rhizopus* **Species:*Rhizopus* sp.**



شكل (١-١٠): فطر *Rhizopus* sp.

تحليل السليولوز Cellulose decomposition

السليولوز هو أهم مكونات النباتات الراقية ومن المحتمل أن يكون أكثر المركبات العضوية وفرة في الطبيعة، لما كانت الغالبية العظمي من المواد النباتية التي تضاف إلي التربة عبارة عن مركبات سليولوزية، تحلل هذا النوع من المواد الكربوهيدراتية يصبح له أهمية خاصة في دورة الكربون الحيوية ولهذا أعطيت الاهتمامات الكافية لدراسة الكائنات الدقيقة التي تشترك في تحليل هذه المادة.

من ناحية التركيب البنائي فإن السليولوز عبارة عن مادة كربوهيدراتية تتكون من وحدات من الجلوكوز المرتبطة ببعضها طولياً بروابط من نوع بيتا $(\beta-1,4)$ بين ذرة الكربون الأولى وذرة الكربون الرابعة لوحدة جلوكوز أخري من جزئ السكر لتكون سلاسل طويلة، تشير معظم الدلائل إلي أن جزئ السليولوز يتكون من ٢,٠٠٠ إلي ١٠,٠٠٠ وحدة جلوكوز وقد تصل أحياناً إلي ١٥,٠٠٠ وحدة جلوكوز، ويختلف عدد وحدات الجلوكوز في السلسلة وكذلك الوزن الجزئي للسليولوز باختلاف نوع النبات، كما تشير التقديرات إلي أن الأوزان الجزيئية له تتراوح بين ٢٠٠,٠٠٠ إلي حوالي ٢,٤ مليون دالتون.

شكل (١- ١١ أ): التركيب البنائي للسليولوز

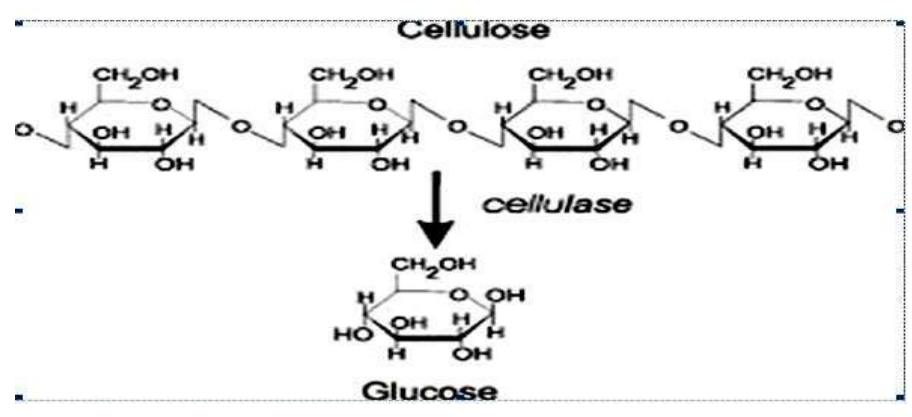
ويتكون النظام الإنزيمي المحلل للسليولوز من ثلاث إنزيمات C_1 و C_x و glucosidase حيث يتطلب التحليل وجود الثلاث إنزيمات، حيث يحلل إنزيم C_1 (Endo-β-1,4 glucanase) المركب الأساسي ويحدث له تحلل جزئي، أما إنزيم (Exo-β -1,4 glucanase) C_x يعمل على النواتج من تكسير الإنزيم الأول وينتج سكر ثنائي وهو السلوبيوز علاوة على سلاسل قصيرة من وحدات من الجلوكوز، أما الإنزيم الثالث وهو β-1,4 glucosidase (Cellobiase) فيحلل السكر الثنائي السلوبيوز والسلاسل القصيرة إلى وحدات من الجلوكوز.

خطوات تحلل السليولوز

$$\text{Cellulose} \xrightarrow{C1} \text{Chains of cello-oligo-saccharides}$$

$$\text{Cello-oligo-saccharides} \xrightarrow{Cx} \text{Oligo-saccharides + Cellobiose}$$

$$\text{Cellobios} \xrightarrow{Cellobiase} \text{glucose}$$

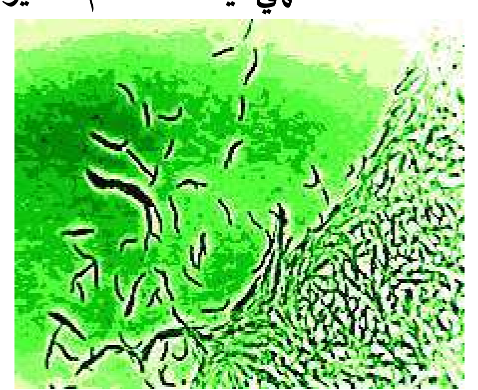
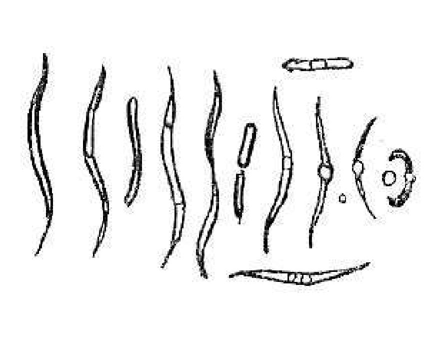


شكل (١-١١ب): تحلل السليولوز إلي جلوكوز

الميكروبات المحللة للسليولوز Cellulose lytic microorganisms

توجد مجموعة متعددة الأشكال من الفطريات ذات القدرة العالية علي تحليل السليولوز تتبع أجناس *Aspergillus, Chaetomium, Fusarium* and *Trichoderma*، ويعتبر فطر *Polyporus versicolor* ذو قدرة علي تحليل السليولوز المرتبط باللجنين وهذا الفطر له القدرة علي إفراز إنزيم خارجي يقوم بفصل اللجنين عن السليولوز.

كما تختلف أعداد البكتريا الهوائية التي تحلل السليولوز من تربة ألي أخري، وأهم أنواع البكتريا المحللة للسليولوز هي التي تنتمي إلي جنس *Cytophaga* وهي ذات خلايا عصوية طويلة مرنة لها أطراف مدببة ولها دور هام في التحلل الهوائي لهذا السكر العديد كذلك الأنواع من جنس *Bacillus* and *Pseudomonas* فهي أيضا تستخدم السليولوز كمصدر للكربون والطاقة.

شكل (١-١٢): الشكل المورفولوجي لبكتريا *Cytophaga*

وفيما يلي التقسيم العلمي لبكتريا *Pseudomonas* and *Cytophaga*

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Bacteroidetes

Class:Bacteroidia

Order:Bacteroidales

Family:Bacteroidaceae

Genus:*Cytophaga*   Species:*Cytophaga* sp.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Pseudomonadales

Family:Pseudomonadaceae

Genus:*Pseudomonas* **Species:*Pseudomonas* sp.**

أما الأكتينوميسيتات المحللة للسليولوز فقد نالت اهتماما قليلا علي الرغم من تواجدها أثناء تحلل المواد السليولوزية. وكثير من أنواع جنس *Streptomyces* تنمو علي بيئات أجار السليولوز المحتوية علي عناصر غذائية معدنية مع تكوين صبغات واضحة، ويجب أن نشير إلي أن تحلل السليولوز بواسطة الميكروبات الهوائية فإنه يتحول كلياً إلي CO_2 , H_2O ولا يحدث أي تراكم لنواتج التحلل الوسطية لأن سرعة تحلل السليولوز إلي سكريات بسيطة أبطأ من سرعة استهلاك السكريات البسيطة بواسطة الميكروبات.

يوجد الكثير من الكائنات الدقيقة التي تقوم بتحليل السليولوز تحت الظروف اللاهوائية، والتي لا تستطيع الأكسدة الكاملة، ونتيجة تكسير جزئ السليولوز لاهوائياً تنتج كميات كبيرة من الكحولات والغازات (CH_4 , H_2) والأحماض العضوية مثل الخليك والفورميك واللاكتيك والبيوتيريك، وعندما تصبح ظروف التربة لا هوائية فإن عملية التحلل تتم بواسطة البكتريا اللاهوائية والاختيارية والتي لا تحتاج لوجود O_2 بينما لا تكون هناك أهمية تذكر للفطريات والأكتينوميسيتات، وأكثر الميكروبات المحللة للسليولوز لاهوائياً في الطبيعة هي أنواع من جنس *Clostridium* مثل *C. dissolvens* وهو محب للحرارة المتوسطة، ومن أنواع البكتريا اللاهوائية المتجرثمة المحبة للحرارة العالية ميكروب *Cl. thermocellum*، ومن الناحية التطبيقية يمكن الاستفادة من مقدرة الميكروبات التى تحلل المواد السليولوزية وذلك بتحضير لقاحات منها واستخدامها فى تحليل المخلفات العضوية عند إنتاج السماد العضوى الصناعى.

تحلل الهميسليولوزات Hemicelluloses decomposition

الهميسليولوزات هي أحد المكونات النباتية الرئيسية التي تضاف إلي التربة ، وهي تلي السليولوز من حيث كمياتها المضافة وبذلك فإنها تمثل مصدرا هاماً من مصادر الطاقة والغذاء للكائنات الدقيقة، ولا يجب أن يعطى تسميتها انطباعا بأنها تشبه السليولوز ولكن هذه التسمية ترجع إلى لوجود الهيمسليولوز مجاورا للسليولوز في جدر النباتات الراقية ولا علاقة لتركيبه بتركيب السليولوز.

أما عن تركيبه فهو عبارة عن سلاسل من مواد كربوهيدراتية معقدة غير متجانسة غير قابلة للذوبان في الماء يدخل في تركيبها سكريات سداسية مثل الجلوكوز والجالاكتوز والمانوز وخماسية مثل الزيلوز والأرابينوز وأحماض يورونية وقد اقترح تسميتها بأكثر السكريات الغالبة فيها مثل الزيلان **Xylanse** أو الجالاكتان **Galactans** أو المانان **Manans**.

ولم يتم دراسة تركيب الهيمسليولوزات بالتفصيل إلا لأنواع قليلة منها فقط ، وقد أعطي المزيد من الاهتمام بوجه خاص لمركبات الزيلان لأنها تمثل ٧ -٣٠٪ من وزن النبات، والتي تتركب من سلاسل من وحدات سكر الزيلوز مع وجود سلاسل جانبية محتوية علي الأرابينوز وحمض الجلوكورونيك وعدد من السكريات الأخرى التي غالبا ما تكون موجودة بنسبة ضئيلة، وتشكل وحدات الزيلوز الهيكل الأساسي للسلسلة المستقيمة في مركبات الزيلان، حيث ترتبط جزيئات السكر مع بعضها البعض بروابط من النوع $\beta-1,4$، وتحتوى بعض النباتات علي مركبات الجالاكتان الذي يتكون من وحدات من سكر الجلاكتوز بصفة أساسية في التركيب ، كما تحتوى بعض الأنواع علي مركبات المانان التي يدخل في تركيبها سكر المانوز فقط ، علي العكس من ذلك فإن معظم الهميسليولوز في بعض الأنسجة الخشبية يكون عبارة عن جلوكومانان يتكون من سكر المانوز والجلوكوز بنسبة ١:٢، وكمثال لبعض أنواع الهميسليولوزات المحتوية علي خليط من السكريات فتوجد مركبات الجلاكتومانان والأرابينوزيلان والأرابينوجلاكتان في بعض الأنسجة النباتية.

ويمكن لكثير من الفطريات والبكتريا والأكتينوبكتريا أن تعمل علي تحليل الهميسليولوزات عند وجودها في مزارع نقية بحيث تستخدمها كمصادر وحيدة

للكربـون والطاقـة مثـل *Alternaria, Fusarium, Aspergillus* and *Penicillium*،كمـا أوضـحت الدراسـات المتعددة أن هنـاك أنواعاً مـن البكتريـا التـي تتبع أجناس *Bacillus, Cytophaga, Pseudomonas,Sporocytophaga* and *Xanthomonas* بالإضـافة إلـي مختلـف الأنـواع الأخـرى يمكنهـا دون شـك اســـتخدام الـهميســـليولوزات كمصـــادر للكربـــون، وتوجـــد أنـــواع مـــن جـــنس *Streptomyces* وأجناس أخرى من الأكتينوبكتريـا لـهـا نفس القدرات الفسيولوجية علي تحليل الـهميسليولوزات.

وفيما يلي التقسيم العلمي للميكروبات المحللة للهيميسليولوز والذي لم تذكر من قبل في هذا الفصل:

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Subdivision:Pezizomycotina

Class:Dothideomycetes

Order:Pleosporales

Family:Pleosporaceae

Genus:*Alternaria* **Species:*Alternaria* sp.**



شكل (١-١٣): فطر *Alternaria* sp.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

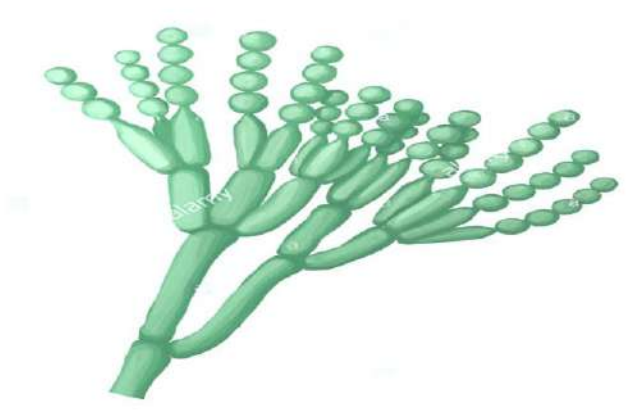
Phylum:Ascomycota

Class:Eurotiomycetes

Order:Eurotiales

Family:Trichocomaceae

.Genus:*Penicillium*   Species: *Penicillium* sp.



شكل (١-١٤): فطر .*Penicillium* sp

Scientific classification

Kingdom:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Xanthomonadales

Family:Xanthomonadaceae

Genus:*Xanthomonas*   Species:*Xanthomonas* sp.

التحلل الحيوي للهميسليولوز

توجد عدة إنزيمات مختلفة متخصصة في تحليل الهميسليولوز، فالسكريات العديدة المتباينة الموجودة ضمن هذه المجموعة من المكونات النباتية تحتاج إلي

وجود مجموعات خاصة من الإنزيمات حتى يمكن استخدامها حيوياً، يوجد ثلاثة أنواع من الإنزيمات التي يمكن لها أن تقوم بالتحلل وهي:

(أ) إنزيمات داخلية (أى تعمل على الجزئ من الداخل) وهي التي تعمل علي تكسير الروابط عشوائياً بين الوحدات البنائية للهميسليولوز.

(ب) إنزيمات خارجية وهي تعمل علي تكسير إما وحدات من السكر الثنائي أو وحدات من السكر الأحادي من نهاية السلسلة للسكر العديد.

(جـ) إنزيمات تعرف في مجموعها بإنزيمات الجلوكوسيديز وإنزيم الجلوكوسيديز يحلل الأوليجومرات أو السكريات الثنائية الناتجة عن التكسير الإنزيمي للهميسليولوز تحليلا مائيا وبذلك تنتج السكريات البسيطة أو حمض اليورونيك وهذه يتم تمثيلها بواسطة الخلية لإنتاج الطاقة.

تم التعرف علي الكثير من إنزيمات الزيلانيز لأنواع الميكروبات غير ذاتية التغذية. وتتوقف نواتج التحلل علي نوع الإنزيم، ولكن هذه الإنزيمات الداخلية تتميز بتكوينها الزيلوبيوز (سكر ثنائي) وسكريات عديدة عالية كما أن الإنزيمات الخارجية عادة ما تكون الزيلوز الذي يمثله الميكروب بعد ذلك داخل الخلية. وبخلاف الزيلوز فإن الكميات الصغيرة من السكريات الأخرى في مركبات الزيلان تنطلق أيضاً ويتم تمثيلها.

ويوجد إنزيمات المانانيز التي تفرز خارج الخلايا بواسطة الفطريات والبكتريا، وهذا النوع من الإنزيمات يمكن أن يكون من الإنزيمات الدائمة الوجود في الخلية لبعض الميكروبات كما يمكن أن تكون من الإنزيمات المستحثة في ميكروبات أخرى، من ناحية أخرى فإن هذا الإنزيم ليس متخصصاً في تحليل السكريات العديدة المحتوية علي وحدات سكر المانوز فقط بل إنه يقوم أيضا بتحليل الجلاكتومانان والجلوكومانان ، وكل منهما يدخل المانوز بصفة رئيسية في وحداته البنائية. وعند غياب الجلوكوسيديز فإنه غالباً ما تتراكم السكريات الثنائية والأوليجومرات لأن التحليل الكامل يحتاج إلي وجود إنزيمات تكسر كل من المركبات المبلمرة والسكريات العديدة.

ويمكن أن تحتوي مركبات الجلاكتان علي روابط $\beta-1,2$ وكذلك $\beta-1,\ 4$ بين وحدات الجلاكتوز وأن تكسير هذه الروابط يحتاج وجود إنزيمين مختلفين يطلق علي أى منهما اسم جلاكتانيز، وينتج عن عمل هذه الإنزيمات تكوين إما جلاكتوز أو جلاكتوبيوز أو جلاكتوتريوز، كما يمكن أن تتكون جميعها معاً في وقت واحد وهذا يتوقف علي الطريقة التي يتم بها تكسير المركب، وبصفة عامة فإنه يمكن القول بأن تحلل الهميسليولوز بواسطة ميكروبات التربة يتطلب وجود مجموعة كبيرة من الإنزيمات لأنه معقد التركيب حيث يبدأ التحلل بتكسير مركب الهيمسليولوز إلي وحدات أصغر ثم تتحلل هذه الوحدات إلي سكريات ثنائية وأحماض يورونية وأخيراً تتحول السكريات الثنائية بفعل إنزيمات الجلوكوسيديز إلي سكريات أحادية تستطيع أن تمر إلي داخل الخلية الميكروبية، ويمكن وضع تصور لتحلل الهيمسليولوز بواسطة الكائنات الحية الدقيقة علي النحو التالي:

Hemicellulose $\xrightarrow{\text{Exoenzymes}}$ " Hexoses" such as Glucose, Mannose, Glactose and Fructose + Uronic acids .

Hemicellulose $\xrightarrow{\text{Exoenzymes}}$ " Pentoses" such as Xylose and Arabinose + Uronic acids .

تحلل المواد البكتينية Pectic substances decomposition

لا تشكل المواد البكتينية نسبة أكبر من ١٪ ، وترجع أهمية وجود هذه السكريات العديدة إلي علاقة وجودها بالتركيب الفيزيائي لأنسجة النبات، وأيضاً إلي علاقتها بحدوث أنواع من الأمراض الناتجة عن الإصابة بالميكروبات الكامنة في التربة أو الميكروبات الممرضة.

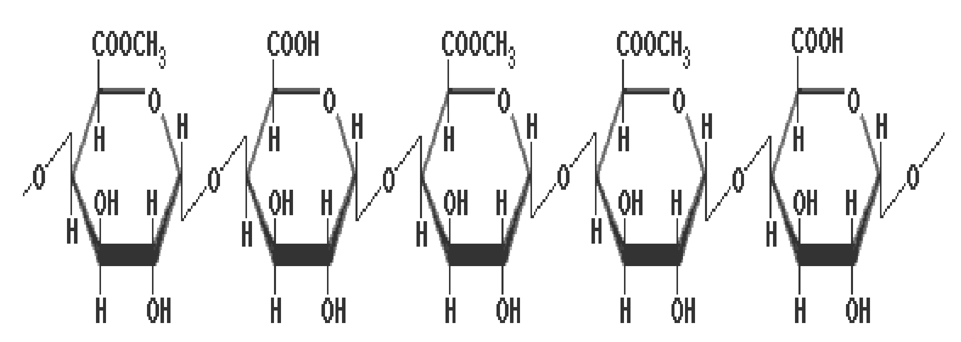
والمواد البكتينية عبارة عن سكريات عديدة معقدة التركيب تتكون من وحدات من حمض الجلاكتورونيك ترتبط مع بعضها البعض لتكون سلسلة طويلة، فهي بذلك عبارة عن أحماض جلاكتورونية عديدة علي الرغم من وجود كميات صغيرة من السكريات أحيانا في هذا المركب. ويمكن أن يحدث لمجموعة كربوكسيل الوحدات البنائية من حمض الجلاكتويورونيك أسترة جزئية أو كلية بواسطة مجموعات

الميثايل، كما يمكن أن تتعادل بدرجة جزئية أو كلية بمختلف أنواع الكاتيونات وتوجد ثلاث أنواع من المواد البكتينية:

(أ) البروتوبكتين وهو أحد مكونات جدار الخلية وهو غير ذائب في الماء مكون من وحدات من حمض الجلاكتويورونيك ويحتوي علي كثير من روابط إسترات الميثيل.

(ب) البكتين وهو بوليمر للجلاكتويوروني ذائب في الماء يشبه السابق في تركيبه ونسبة مجاميع الإستر به حوالي ٨٪.

(ج) حمض البكتيك وهي بوليمر من حمض الجلاكتويورونيك وهو ذائب في الماء ولا يوجد به روابط إسترات الميثيل.



شكل (١-١٥): وحدات حمض الجلاكتورنيك يحتوي بعضها علي روابط ميثيل استر

البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات لها القدرة علي تحليل المواد البكتينية تحليلا مائياً حيث تستخدم هذه السكريات العديدة كمصادر للطاقة اللازمة للنمو، وكقاعدة عامة فإن المواد البكتينية تتحلل بسهولة بواسطة الميكروبات سواء في التربة أو في المزارع الميكروبية، ويكثر وجود الكائنات الحية الدقيقة التي تستخدم المواد البكتينية ليس في التربة فحسب ولكن أيضا في منطقة الجذور حيث وجد أن أعدادها تتجاوز $١٠^{٧}$ في الجرام من التربة الملاصقة مباشرة لجذور النباتات.

والأجناس البكتيرية النشطة في تحليل البكتين والتي توجد أنواعها بأعداد وفيرة هي علي وجه التحديد *Arthrobacter, Bacillus, Clostridium, Micrococcus* and *Peusdomonas* كما أن هناك أجناساً أخرى تتضمن أنواعاً يمكنها أيضاً استخدام هذا النوع من الكربوهيدرات والقدرة علي استخدام هذا

السـكر العديـد شـائع بـين الأكتينوميسـيتات مـن أجنـاس *Streptomyces*, *Micromonospora* and *Actinoplanes*.

وفيما يلي التقسيم العلمي للميكروبات المحللة للمواد البكتينية والتي لم تذكر من قبل في هذا الفصل:

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Class:Actinobacteriae

Order:Actinomycetales

Family:Micrococcaceae

Genus:*Arthrobacter* **Species:*Arthrobacter* sp.**

Scientific classification

Domain:Bacteria

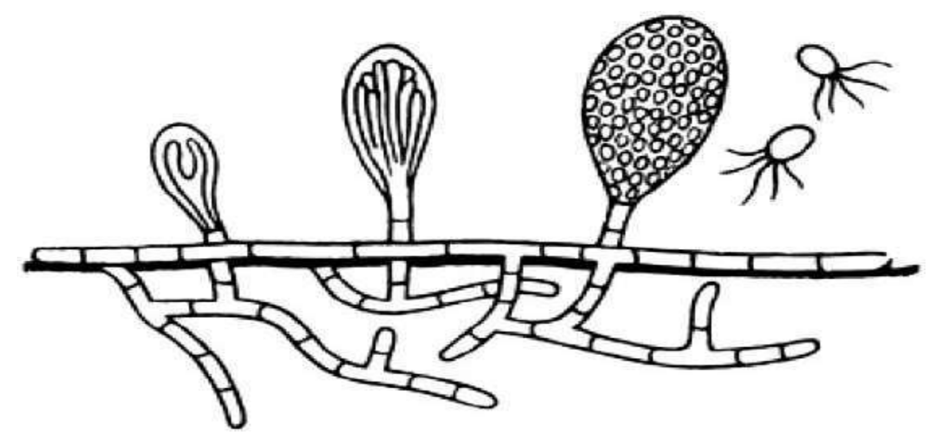
Phylum:Actinobacteria

Class:Actinobacteridae

Order:Micromonosporales

Family:Micromonosporaceae

Genus:*Actinoplanes* **Species:*Actinoplanes* sp.**



شكل (١-١٦): بكتريا *Actinoplanes* sp.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Family:Micromonosporaceae

Genus:Micromonospora

Species: *Micromonospora* sp.



شكل (١-١٧): بكتريا *Micromonospora* sp.

ويمكن تقسيم أنواع الإنزيمات القادرة علي تحليل المواد البكتينية إلي ثلاثة أقسام رئيسية:

(أ) البكتين ميثيل إستيريز يعمل فقط علي إحداث تغيرات بسيطة في الجزئ حيث يقتصر علي إزالة مجموعات الميثيل وانفراد الميثانول وبهذا فهو يحول البكتين أو الأحماض البكتينية إلي حمض بكتيك.

$$(RCOOCH_3)_n + {}_nH_2O \longrightarrow (RCOOH)_n + {}_nCH_3OH$$

(ب) إنزيم البولي ميثيل جلاكتويورونيز Polymethyl glacturonase (PMG) الذي يحلل جزئ البكتين بمعدل أسرع من تحليلها لحمض البكتيك.

(ج) إذا كان التحليل المائي لحمض البكتيك يتم بمعدل أسرع من تحلل البكتين فيعرف الإنزيم باسم بولى جلاكتويورونيز Polygalacturonase (PG) حيث يتكون في النهاية حمض الجلاكتويورونيك والمعادلات التالية توضح ذلك.

Protopectin $\xrightarrow{PME}$ Pectin $\xrightarrow{PMG}$ Pectic acid

Pectic acid $\xrightarrow{PG}$ Galacturonic acid

Pectic acid $\xrightarrow{Lyase}$ Galacturonic acid

ويعتبر تحلل المواد البكتينية ذو أهمية تطبيقية كبيرة في مجال تعطين نباتات الألياف مثل التيل والكتان والجوت والسيسال حيث تعمل الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية المكونة للصفيحة الوسطى التي تربط أنسجة الألياف ثم تتفكك وبذلك يسهل فصل الألياف السليولوزية (الألياف اللحائية) عن باقي الأنسجة النباتية، كذلك فإن القدرة على إحداث أمراض العفن الطري **Soft rot** مرتبط بقدرة هذه الميكروبات على إفراز الإنزيمات المحللة للموارد البكتينية ومن أهم المحاصيل التي تصاب بالعفن الطري هي البطاطس والجزر والخيار واللفت وغيرها من محاصيل الخضر والفاكهة.

يعتبر ميكروب *Erwinia caratovora* هو المسبب الأساسي لمرض العفن الطري حيث يؤدى نمو هذا الميكروب داخل الأنسجة النباتية إلى تفكك الخلايا بسبب قدرة هذا الميكروب على إفراز الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية، أيضاً وجد أن قدرة الفطريات المسببة للذبول يرجع إلى إفراز مثل هذه الفطريات الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية، ومن الناحية التطبيقية فإنه يمكن تحضير لقاحات من الميكروبات المحللة للمواد البكتينية واستخدامها فى الإسراع من تعطين نباتات الألياف والحصول على ألياف ذات جودة عالية.

تحليل الكيتين Chitin decomposition

يعتبر الكيتين أكثر أنواع السكريات العديدة ذات الوحدات الأساسية من السكريات الأمينية تواجدا في الطبيعة، طبيعة تركيب هذا السكر العديد يعطي الكائنات المحتوية عليه قوة ميكانيكية كبيرة، فالكيتين غير ذائب في الماء أو المذيبات العضوية أو القلويات المركزة أو الأحماض المعدنية المخففة ولكن يمكن إذابته وتحليله إما عن طريق الإنزيمات أو بمعاملته بالأحماض المعدنية المركزة، من ناحية التركيب البنائي فإن الكيتين يتكون من سلسلة طويلة مستقيمة من وحدات N-

acetylglucoseamine ، وتركيـــب الكيتـــين هــو $(C_6H_9O_4.NH-COCH_3)_n$ ويحتوى المركب النقي علـي ٦,٩٪ نيتروجين، وهذا البوليمر يتشابه مع السليولوز مع استبدال وحدة الأسيتيل أمينو $(-NH-COCH_3)$ بمجموعة الهيدروكسيل في وحدة الجلوكوز وتحتوى بعض الكيتينات علي كميات مختلفة من الكيتوزان المرتبط معها، يتواجد الكيتين في التربة من بقايا الحشرات التي تقضى أطوارا من حياتها تحت سطح التربة كما أنه ينتج أيضاً أثناء نمو الفطريات وربما بعض الميكروبات الأخرى، وحتى في حالة عدم إضافة الكيتين فإن هذا السكر العديد الأميني يتكون في التربة بعمليات التخليق الحيوي لميكروبات التربة، لذلك فهو يعتبر أحد المركبات الأولية للجزء العضوي من مكونات التربة الذي تقوم خلايا الميكروبات بتخليقه بصفة مستمرة.

شكل (١-١٨): التركيب البنائي للكيتين

علي الرغم من وجود الأكتينوميسيتات بأعداد قليلة نسبيا في مجموع الكائنات الدقيقة للتربة فإن حوالي ٩٠ - ٩٩٪ من عزلات الميكروبات المحللة للكيتين في بعض الأراضي تكون عبارة عن أكتينوميسيتات في حين تمثل البكتريا مجرد نسبة ضئيلة منها، أما الفطريات المحللة للكيتين فهي تمثل من ١٪ من المجموع الكلي للكائنات الدقيقة المحللة لهذه المادة لذلك ففي التربة الغير معاملة بالكيتين فإنه أحيانا ما تكون غالبية الكائنات المحللة للكيتين هوائيا هي الأكتينوميسيتات، وقد تصل أعداد محللات الكيتين في التربة إلي ٧٠٠ مليون ميكروب من في الجرام كما أنها تحتوي أيضاً علي أعداد من جنس *Streptomyces*

Nocardia ولكن بدرجة أقل وهذه الميكروبات تشكل الجزء الأعظم من مجموع الميكروبات المحللة للكيتين، ونظرا لأن الكثير من الأنواع التابعة لأجناس *Streptomyces, Nocardia* and *Micromonospora* يمكنها استخدام الكيتين، ومن ناحية أخرى فإنه يمكن أن يكون للفطريات والبكتريا دور بارز في هذا المجال في بعض أنواع التربة فالفطريات من أجناس *Mortierella, Trichoderma* and *Verticillium* بالإضافة إلي الأنواع البكتيرية من أجناس *Bacillus* and *Pseudomonas* كثيرا ما يكون لها دور بارز في تحليل الكيتين، كما أن هناك أيضا بعض الأنواع البكتيرية لأجناس *Chromobacterium, Cytophaga, Flavobacterium* and *Micrococcus* لها نفس الدور البارز في التحليل حيث تكون السيادة للبكتريا في الأماكن غير الجيدة الصرف، كما أنه من المعروف أن أنواع من جنس *Clostridium* يمكنها تمثيل جزئ الكيتين في غياب O_2.

وفيما يلي التقسيم العلمي للميكروبات المحللة للمواد البكتينية والتي لم تذكر من قبل في هذا الفصل:

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

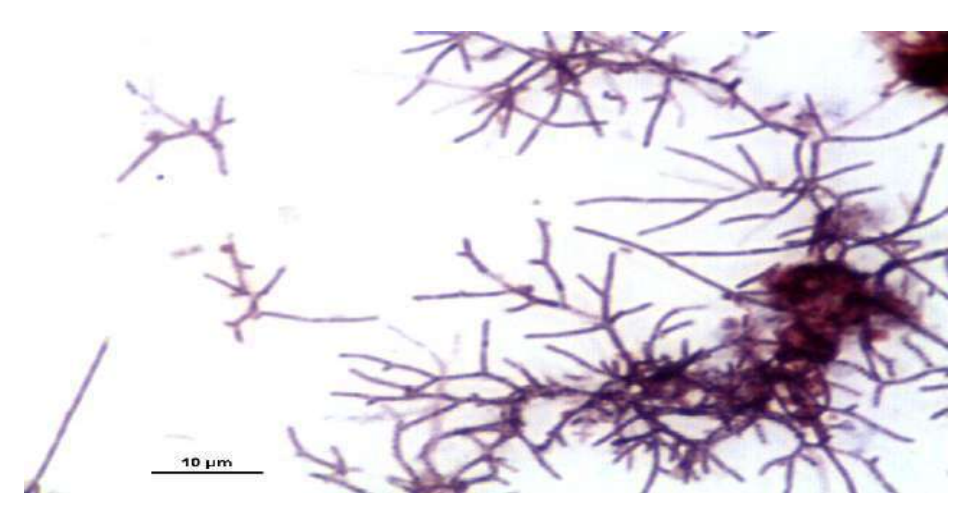
Class:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Suborder:Corynebacterineae

Family:Nocardiaceae

Genus:*Nocardia*   Species:*Nocardia asteroids*



شكل (١-١٩): بكتريا ***Nocardia asteroids***

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Zygomycota

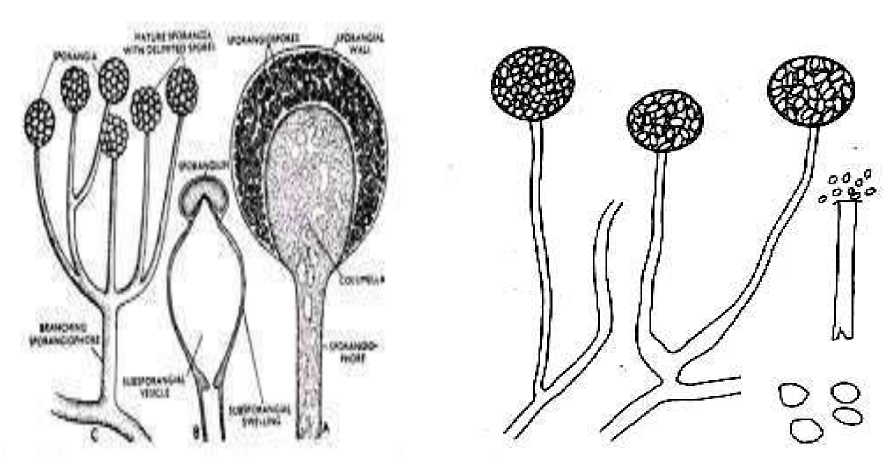
Subphylum:Mucoromycotina

Order:Mortierellales

Family:Mortierellaceae

Genus:*Mortierella*

Type species:*Mortierella polycephala*



شكل (١-٢٠): فطر ***Mortierella polycephala***

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

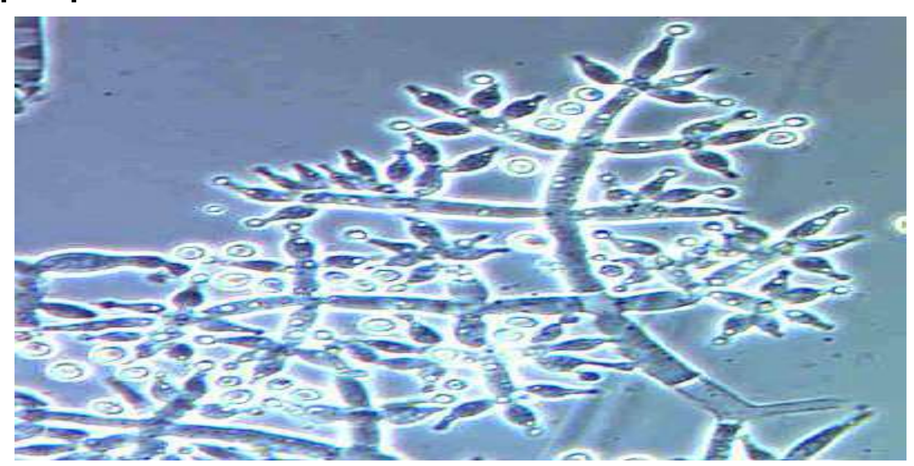
Class:Sordariomycetes

Order:Hypocreales

Family:Hypocreaceae

Genus:*Trichoderma*

Type species :*Trichoderma harzianum*



شكل (١-٢١) : فطر *Trichoderma harzianum*

Verticillium theobromae

Scientific classification

Kingdom:Fungi

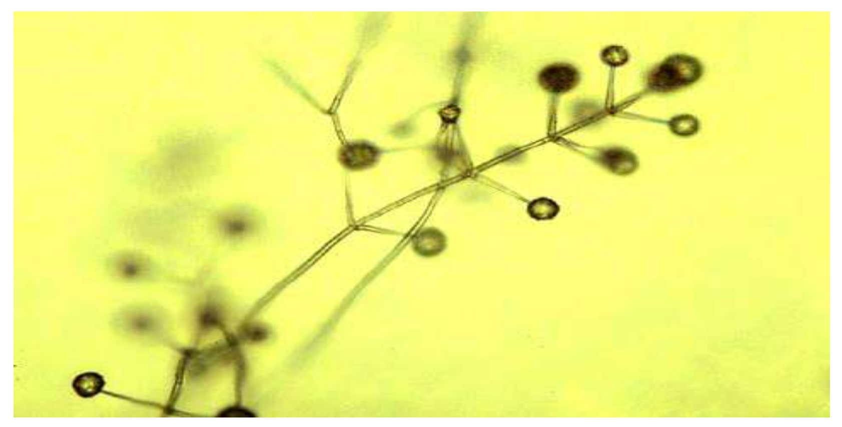
Phylum:Ascomycota

Class:Incertae sedis

Family:Plectosphaerellaceae

Genus:*Verticillium*

Type species: *Verticillium theobromae*



شكل (١-٢٢) : فطر *Verticillium theobromae*

Scientific classification

Domain:Bacteria

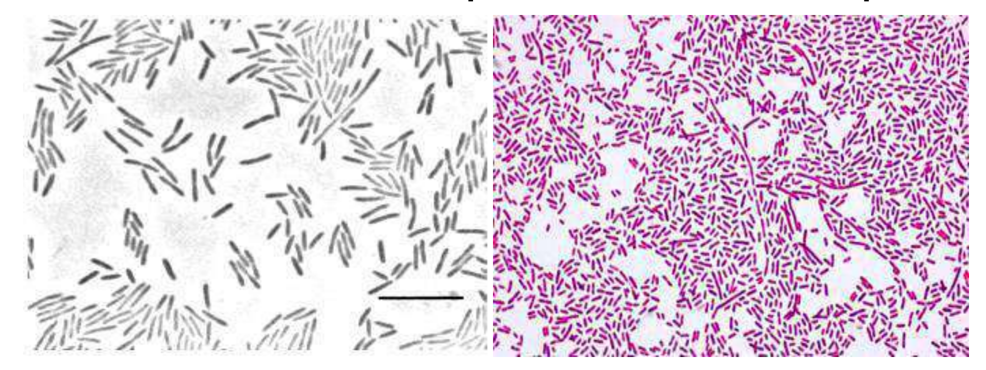
Phylum:Bacteroidetes

Class:Flavobacteriia

Order:Flavobacteriales

Family:Flavobacteriaceae

Genus:*Flavobacterium* **Species:*Flavobacterium* sp.**



شكل (١-٢٣): بكتريا *Flavobacterium* sp.

وتتضمن عملية تحلل الكيتين وجود الإنزيمين التاليين:

(أ) الكيتينيز Chitinase الذي يعمل علي فك بلمرة السلسلة وإنتاج أوليجومرات ذات وحدات عديدة من N- اسيتيل جلوكوز أمين ومركبات ثنائية الوحدات يطلق عليها Chitinobiose.

(ب) إنزيم كيتينوبييز Chitinobiase أو الأفضل أن يسمي N– أسيتيل جلوكوز أمينيديز الذي يحلل الأوليجومرات وChitinobiose تحليلا مائيا لإنتاج N– أسيتيل جلوكوز أمين، وفي بعض الأحيان يكون الكيتينوبيوز هو أكثر نواتج التحليل تواجدا، بالإضافة إلي هذين النوعين من الإنزيمات فإنه يمكن أن تكون هناك حاجة إلي إنزيم ثالث يعمل علي بدء مهاجمة الكيتين بحيث يحول الجزئ الطبيعي منه إلي صورة مناسبة لفعل إنزيم الكيتينيز، يتحول مركب N– أسيتيل جلوكوز أمين المتكون في نهاية مرحلة التحليل إلي حمض خليك وجلوكوز أمين مع انطلاق الأمونيا من هذا المركب الأخير أو أحد مشتقاته، والجلوكوز أمين أو المركب المتكون عنه يسهل مهاجمة الميكروبات له واستخدامه في داخل الخلية كمصدر للكربون والطاقة.

والمعادلات التالية توضح خطوات تحلل الكيتين بواسطة الميكروبات:

$$\text{Chitin} \xrightarrow{\text{Chitinase}} \text{Oligomers} + \text{Chitinobiose}$$

$$\text{Chitinobiose} \xrightarrow{\text{Chitinobiase}} \text{N-acetylglucose amine}$$

$$\text{N-acetylglucose amine} \longrightarrow \text{Glucose amine} + \text{Acetic acid}$$

$$\text{Glucose amine} \xrightarrow{\text{Deaminase}} \text{Glucose} + NH_3$$

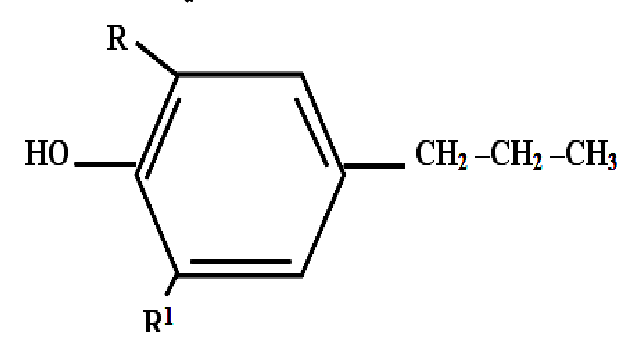
$$\text{Glucose} \xrightarrow{\text{Aerobic conditions}} CO_2 + H_2O$$

$$\text{Glucose} \xrightarrow{\text{Anarobic conditions}} CO_2 + H_2 + \text{Alcohols} + \text{Organicacids} + CH_4$$

تحليل اللجنين Lignin decomposition

يوجد اللجنين في الجدار الخلوي لكثير من النباتات ونسبة اللجنين تختلف كثيرا من نبات إلي أخر وتتوقف علي عمر النبات، وتتراوح هذه النسبة بين ٥–٣٠٪ من تركيب النبات علي أساس الوزن الجاف، كما تحتوي جدر خلايا بعض الفطريات علي مواد شبيهة باللجنين مثل أجناس *Aspergillus*, *Humicola* and *Gliocladium* وعادة يوجد اللجنين في النباتات مرتبطا بالسليلولوز مكوناً مركبات معقدة من اللجنوسليولوز Lignocelluloses وتزداد نسبة اللجنين في جدر الخلايا مع تقدمها في العمر حيث تترسب فيها باستمرار مع زيادة سمك الجذر،

وفي العادة فإن عملية الحصول علي اللجنين بحالة نقية لإجراء الدراسات الميكروبيولوجية والكيميائية علي تحلله صعب جداً وذلك لارتباطه بمواد أخري في الأنسجة النباتية، ومن الناحية الكيميائية فإن اللجنين لا يعتبر مادة متجانسة التركيب الكيميائي ولكن يمكن اعتباره مجموعة من المركبات تختلف في تركيبها كثيرا من نبات لأخر، وعموماً فإن مركبات اللجنين غير قابلة للذوبان في الماء الساخن وتقاوم التحلل بالأحماض المعدنية القوية ولا يذوب في المذيبات العضوية المتعادلة ولكنه يذوب في القلويات، ولقد أظهرت الدراسات الفيزيائية أنه يحتوي علي نواة من مركبات عطرية أساساً من مشتقات **Phenyl propane** وتحتوي المركبات الحلقية أو العطرية علي عدد كبير من مجاميع الميثوكسيل CH_3O- ونسبة هذه المجاميع في تركيب اللجنين يختلف من نبات إلي أخر فهي تصل في المتوسط إلي ٢١٪ من اللجنين في الأشجار متساقطة الأوراق ومن ١٥-١٦٪ في النجيليات عموماً، ويمكن القول أن نسبتها لا تقل عن ١٤٪ من تركيب اللجنين والوحدة الأساسية الداخلة في بناء النواة العطرية للجنين يمكن توضيحها كما يلي:



شكل (١-٢٤) :التركيب البنائى للجنين

وهذه هي الوحدة الأساسية توجد في ثلاث صور وهي:

١-الصورة الأولي وفيها R, R^1 عبارة عن H.

٢-الصورة الثانية وفيها R هي عبارة عن H أما R^1 عبارة عن CH_3O.

٣-الصورة الثالثة وفيها R, R^1 عبارة عن CH_3O.

ونسب هذه الصور الثلاثة تختلف في أنواع النباتات المختلفة مما يؤدي إلي أن نسب مجاميع الميثوكسيل في اللجنين تختلف من نبات لأخر.

وتوضيح التركيب الكيميائي للجنين صعب وهذا ينعكس علي دراسة طريقة التحلل الميكروبي له ونواتج التحلل، لذلك فإن مثل هذه الدراسات عادة ما يستخدم فيها بعض المركبات الداخلة في تركيب اللجنين حتى يمكن تتبع نواتج التحلل ووضع نظريات تحدد خطوات هذا التحلل، والمجموعة الإنزيمية التي تنشط تحليل اللجنين يطلق عليها عادة إنزيم لجنينيز **Ligninase** ولكن الدراسة عليها وهل هي إنزيم واحد أو مجموعة من الإنزيمات فإنها غير مكتملة للأن.

ولقد أوضحت الدراسات التي يستخدم فيها بعض المركبات الداخلة في تركيب اللجنين مثل **α–Conidendrin** أن بعض السلالات الميكروبية تستطيع استخدامه كمصدر وحيد للكربون مثل ***Flavobacterium* sp.**.

ولقد اتضح أن التحلل يعطي **Vanillic acid** الذي يتحول بالتالي إلي **Protocatechuic acid** كما لوحظ أن كثيرا من فطريات التربة قادرة علي أكسدة **Vanillin, Vanillic acid, Syringic acid, Syringaldehyde, Ferulic acid and Hydroxybenzoic acid**. وهذه المركبات جميعها تدخل في تركيب اللجنين، وتؤدي الأكسدة لهذه المركبات في العادة إلي كسر حلقات البنزين التي تكون أساسا التركيب، فجميع هذه المركبات تحتوي علي حلقات بنزين، وأغلبها يحتوي علي مجموعات الميثوكسيل **–O– CH_3** أو الهيدروكسيل **–OH** أو الكربوكسيل **–COOH** أو الألدهيد **–CHO**.

وعادة فإنه عند التحلل الميكروبي تختفي مجاميع الميثوكسيل والسلاسل الجانبية علي النواة العطرية أولا قبل تكسير النواة، وباختصار يمكن القول أن جزيء اللجنين يحدث له تحلل إلي مركبات عطرية بسيطة أولا **Depolymerization** بواسطة إنزيمات خارجية تفرزها الميكروبات في الوسط ثم بعد ذلك تزال مجاميع الميثوكسيل من هذه الجزيئات وتبقي مشتقات البنزين التي بعد ذلك يحدث لها تكسير للحلقات العطرية، ويوجد بعض الأراء التي تشير إلي أن إزالة مجاميع الميثوكسيل قد تتم قبل تحلل الجزيء إلي مركباته العطرية.

يعتبر اللجنين من أبطأ المواد الكربونية في التحلل في الأراضي ، لذلك فإن نسبته ترتفع باستمرار مع تقدم عملية تحلل المواد العضوية المضافة للتربة وذلك

نتيجة للسرعة التي يتم بها تحلل المواد الكربونية الأخرى مقارنة باللجنين، وتعتبر سرعة تحلل السليولوز علي سبيل المثال ثلاثة أضعاف سرعة تحلل اللجنين، وعلي سبيل المثال فإنه لو أضيف إلي التربة مادة عضوية نباتية تحتوي علي ١٥ ٪ لجنين فإنه بعد ٦ شهور من بدء التحلل ترتفع نسبة اللجنين في المادة المتحللة إلي ٣٠٪ وبذلك ترتفع نسبة المواد الفينولية العطرية في المواد العضوية وهذه تتحد مع مركبات نيتروجين ومركبات أخري لتكوين الدبال **Humus** ولذلك فالدبال غني بالمركبات العطرية.

أما من ناحية الميكروبات التي تحلل اللجنين في التربة فقد لوحظ أن عدد الميكروبات المحللة له في التربة قليلة، فلوحظ مثلاً أن بعض الميكروبات الهوائية العصوية السالبة لصبغة لجرام غير المكونة للجراثيم مثل أجناس ***Pseudomonas*** **and *Flavobacterium*** قادرة علي تحليله كما تستطيع بعض أنواع من الـ **Actinomycetes** تحليله أيضاً.

ومن أهم ميكروبات التربة من ناحية القدرة علي تحليل اللجنين هي الفطريات وخصوصاً بعض الفطريات التابعة للـ **Basidiomycetes and Ascomycetes** التي تلعب الدور الأساسي في تحليل الأنسجة الخشبية الشديدة الصلابة حيث يستطيع ميسيليوم هذه الفطريات اختراق أنسجة الخشب بمساعدة الإنزيمات الخارجية ومن أمثلة الفطريات المحللة للجنين أو المركبات التي يدخل في تركيبها الفطريات الأتية:

***Agaricus*, *Armilaria*, *Cladosporium*, *Polyporus* and *Trichosporon*.**

وفيما يلي تقسيم الفطريات التي لها القدرة علي تحلل اللجنين:

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Basidiomycota

Class: Agaricomycetes

Order:Agaricales

Family:Agaricaceae

Genus:*Agaricus* **Species:*Agaricus campestris***



شكل (١-٢٥) : فطر *Agaricus campestris*

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Basidiomycota

Class:Agaricomycetes

Order:Agaricales

Family:Physalacriaceae

Genus:*Armillaria* **Species:*Armillaria mellea***



شكل (١-٢٦) : فطر *Armillaria mellea*

Scientific classification

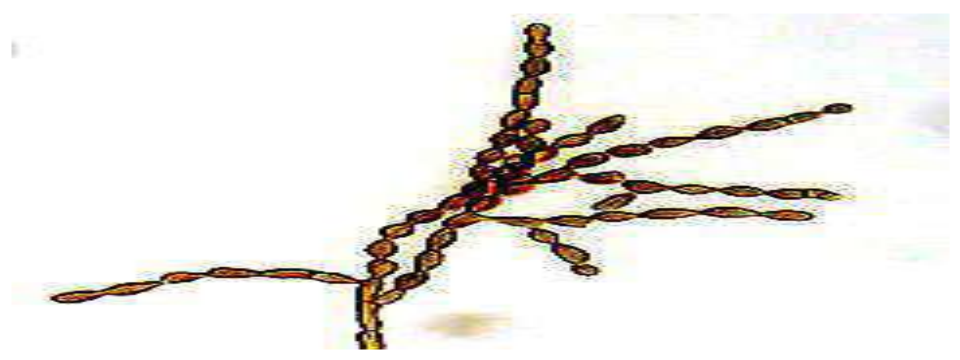
Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Dothideomycetes

Order:Capnodiales Family:Davidiellaceae

Genus:*Cladosporium* Species:*Cladosporium herbarum*



شكل (١-٢٧) : فطر*Cladosporium herbarum*

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Basidiomycota

Class:Agaricomycetes

Order:Polyporales

Family:Polyporaceae

Genus:*Polyporus* Species:*Polyporus tuberaster*



شكل (١-٢٨) : فطر *Polyporus tuberaster*

Scientific classification

Kingdom:Fungi

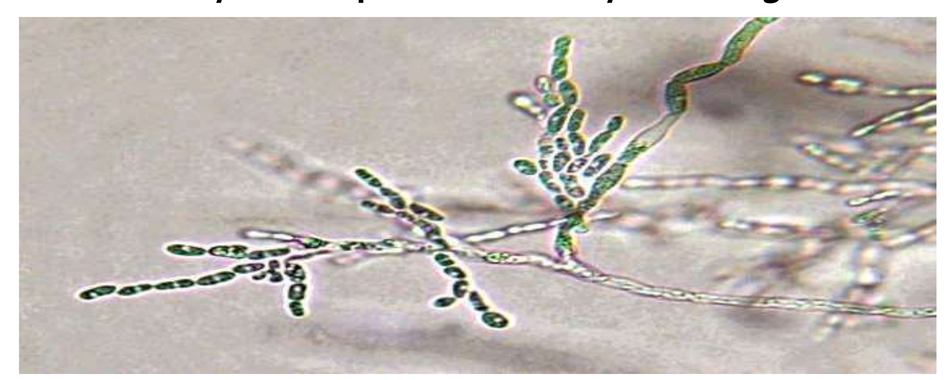
Phylum:Basidiomycota

Class:Tremellomycetes

Order:Tremellales

Family:Trichosporonaceae

Genus: ***Trichosporon*** **Species:** ***Trichosporon beigelii***



شكل (١-٢٩) : فطر *Trichosporon beigelii*

أكسدة الهيدروكربونات الأليفاتية

Oxidation of aliphatic hydrocarbons

تستجيب ميكروبات التربة لإضافة البارافين والبترول ومنتجاته وكذا المركبات الهيدروكربونية الأخرى، حيث تقوم المجموعات الميكروبية الناشئة عن الإضافة باستهلاك هذه المواد والعمل علي اختفائها من التربة، هذا النوع من التحولات يعتبر ذو أهمية كبيرة بالنسبة لدورة الكربون في الأرض، لأن الشموع ومختلف المركبات الأخرى للأنسجة النباتية تحتوى علي الهيدروكربونات الأليفاتية ، وقد وجد أن الهيدروكربون أو المركبات المشابهة له في التركيب تمثل ٠,٠٢٪ تقريباً من الأنسجة النباتية، يوجد مصدر أخر لهذه المركبات في التربة وهو ميكروبات التربة نفسها التي يمكنها تخليق أنواع مختلفة من الهيدروكربونات أو الجزيئات المشابهة لها. فهناك مثلا بعض أنواع من البكتريا والطحالب وجراثيم الفطريات تحتوى خلاياها إما علي هيدروكربونات أليفاتية أو مواد مشابهة في تركيبها البنائي للهيدروكربونات. ربما تقوم الميكروبات المؤكسدة للمواد الهيدروكربونية أيضاً بتمثيل الزيوت التي تستخدم كمواد حاملة لمبيدات الأفات أثناء الرش والتي تصل إلي التربة حتي عند رش الأجزاء الخضرية للنبات بالإضافة إلي ذلك فإن طبقة التربة الواقعة أسفل الطرق الأسفلتية تحتوى علي أعداد كبيرة من البكتريا القادرة علي استخدام الأسفلت.

وتدل قصر مدة بقاء الأنواع العديدة من الهيدروكربونات في التربة إلي وجود مجموعات ميكروبية تقوم باستخدامها بشراهة ، ولقد وجد عند إضافة البارافين كمادة غذائية للنمو أن أعداد الميكروبات قد تصل إلي أكثر من ١٠° في الجرام، فالمركبات التي تستخدمها الميكروبات تشتمل علي البارافين والكيروسين والجازولين وزيوت التشحيم المعدنية والإسفلت والقطران والمطاط الطبيعي والصناعي ، كما يتحلل أيضاً الميثان والإيثان والبروبان والبيوتان والبنتان والهكسان وكثير من الهيدروكربونات الأليفاتية ذات التركيب من نوع C_nH_{2n+2} والتي منها الأنواع ذات ذرة الكربون الواحدة والأنواع ذات الأربع ذرات من الكربون وهي توجد في صورة غازية تحت درجة حرارة الغرفة الأقل من ٣٠ °م ، وكل هذه المركبات قابلة للتحلل الحيوي، حتى المركبات الصلبة ذات نفس النوع من التركيب كالجزيئات المحتوية علي ٢٠ ذرة كربون أو أكثر تقوم الميكروبات بتمثيلها هي الأخرى .

كثيراً ما يحدث تسرب للغاز الطبيعي من الأنابيب تحت سطح الأرض، وعلي الرغم من أن هذا يمثل أحد مشاكل تلوث البيئة فإن هناك توسعا في استخدام هذا الغاز في المدن وضواحيها، ويؤدي تسرب الغاز في بعض الأحيان إلي قتل الأشجار في المدن بمعدل أكبر من موتها بالعوامل الطبيعية الأخرى مجتمعة، ويحتوى الغاز الطبيعي عادة علي نسبة عالية من الميثان وكميات قليلة من الإيثان بالإضافة إلي أثار من المركبات الطيارة الأخرى، وتتكاثر البكتريا القادرة علي أكسدة الهيدروكربونات الطيارة في المنطقة المحيطة بالغاز المتسرب فتقوم باستهلاك O_2 مما يعمل علي إيجاد مواقع فقيرة في الأكسجين ثم تقوم البكتريا بتخليق مركبات يحتمل أن يكون لبعضها تأثير سام علي النباتات، ولذلك فإن تأثر النباتات المجاورة ليس نتيجة وجود الغاز الطبيعي في حد ذاته بل يكون بسبب نقص O_2 وزيادة تركيز CO_2 وربما أيضاً يكون راجعاً إلي وجود المواد السامة التي أنتجتها الميكروبات.

وتوجد أنواع كثيرة من البكتريا يمكنها تمثيل الهيدروكربونات الأليفاتية ذات السلاسل الطويلة أو القصيرة، ولكن هناك نوعاً أو أكثر من الهيدروكربونات الغازية وخصوصاً الميثان لا يمكن لهذه الكائنات الدقيقة أن تؤكسدها ، ولقد وجد أن أنواع كثيرة من البكتريا التي عزلت من التربة المضاف إليها بترول يمكنها استخدام

الهيدروكربونات الغازية من إيثان (C_2H_6) وبروبان (C_3H_8) وبيوتان (C_4H_{10}) ولكنها لا تستخدم الميثان ،ويمكن للميكروبات من أجناس *Mycobacterium, Nocardia, Streptomyces, Pseudomonas* and *Flavobacterium* وكذا البكتريا الكروية وعديد من الفطريات الخيطية أن تقوم بتمثيل الإيثان، وتتميز أنواع الميكوبكتريا علي وجه التحديد بأنها أكبر الميكروبات استخداماً لمثل هذه المركبات البسيطة. وبالنسبة للهيدروكربونات ذات الأوزان الجزيئية العالية فإنها تستهلك بواسطة أنواع من الكائنات الدقيقة تتضمن أجناس *Mycobacterium, Nocardia, Pseudomonas, Streptomyces, Corynebacterium, Acinetobacter* and *Bacillus* كما يقوم بذلك أيضاً جنسان من الخمائر هما *Rhodotorula* and *Candida* بالإضافة إلي عديد من الفطريات.

ويمكن لكثير من الكائنات الدقيقة أن تقوم بتمثيل الهيدروكربونات الأليفاتية التي لا يمكنها استخدامها كمصدر كربوني للنمو وهذا يمثل ظاهرة تعرف باسم التمثيل الغذائي المشترك Co- metabolism وهي قيام الكائن الدقيق بتمثيل أحد المركبات التي لا يمكن للخلية استخدامها كمصدر للطاقة أو كمصدر أساسي من العناصر الغذائية ، ولما كانت عملية التمثيل الغذائي المشترك للهيدروكربونات عادة ما تتضمن عملية أكسدة فإنه أحياناً ما يطلق عليها اسم الأكسدة المشتركة Co- oxidation . ولإثبات حدوث ظاهرة التمثيل الغذائي المشترك لهذه الجزيئات فإنه عادة ما يتم إمداد الميكروبات بمصدر كربوني مناسب للنمو مع إضافة المادة الثانية وهذه تتأكسد في نفس الوقت مع المادة الأولى، ميكانيكية التحلل الميكروبي في أكسدة الهيدروكربون تتم في خطوات متتالية تؤدي إلي إنتاج المركبات المقابلة منه من كحول وألدهيد وحمض دهني.

$$R{-}CH_3 \xrightarrow{(1)} R{-}OH \xrightarrow{(2)} R{-}CHO \xrightarrow{(3)} R{-}COO$$

(1) Monooxygenase (2) Alcohol dehydrogenase

(3) Aldehyde dehydrogenase

وخلال خطوات التحلل تتأكسد أولاً ذرة الكربون الموجودة في طرف المركب، وفي حالة الأكسدة من طرفي المركب تتم بنفس الطريقة ويتحول المركب إلى حمض دهني ثنائي الكربوكسيل في طرفيه ويتحلل الحمض الدهني عن طريق سلسلة من التفاعلات حسب نوع الميكروب المحلل ومن هذه الطرق :

الأكسدة من النوع ألفا α−Oxidation التي يؤكسد فيها ذرة الكربون التي تلي مجموعة الكربوكسيل والأكسدة من النوع بيتا β−Oxidation التي ينتزع فيها ذرتي كربون من نهاية السلسلة ليتكون حمض الخليك.

أولاً: الأكسدة من النوع ألفا α−Oxidation

وفيها تتم أكسدة ذرة الكربون التي في وضع ألفا والتي تلي مجموعة الكربوكسيل وتتم الأكسدة على خطوات حيث تتحول مجموعة الكربون ألفا إلى CHOH ويتكون حمض دهني يحتوى على مجموعة هيدروكسى في الوضع ألفا ثم تتأكسد مجموعة الهيدروكسى إلى مجموعة كربوكسيل مع نزع مجموعة الكربوكسيل الطرفية وبذلك ينتج حمض دهني أقل من الحمض الأصلي بذرة كربون واحدة وتتكرر هذه العملية حتى يتحلل المركب.

$$R-CH_2-COOH \longrightarrow R-CHOH-COOH \longrightarrow R-CH_2OH \longrightarrow R-COOH + CO_2$$

حمض دهنى حمض كحولي كحولي أولي حمض عضوى

ثانياً: الأكسدة من النوع بيتا β−Oxidation

وهى من أكثر طرق أكسدة المركبات الأليفاتية شيوعاً حيث تؤدى أكسدة مجموعة كربون بيتا بالسلسلة إلى إزالة مستمرة لمجموعة أسيتات ويتكون حمض خليك أي أن السلسلة تفقد ذرتي كربون في كل دورة أكسدة، وتبدأ الأكسدة بوجود إنزيم Monooxidases وإنزيم Alcohol dehydrogenase وإنزيم Aldehyde dehydrogenase فتتحول سلسلة الألكان إلى حمض دهني الذي يتم تحويله إلى ثيوإستر مع المرافق الإنزيمي CoA ثم أكسدة لمجموعة كربون بيتا ثم انفصال مجموعة أسيتيل من الحمض الدهنى الذي ينقص عن الحمض الأصلي بذرتي كربون وتستمر هذه العملية حتى يتحلل المركب.

وتوضح المعادلات التالية خطوات أكسدة الأحماض الدهنية من النوع بيتا:

أ- في البداية يحدث تنشيط للحمض الدهني وتحويله إلي ثيوإستر مرتبط بالمرافق الإنزيمي CoA:

$$R-CH_2-CH_2-CH_3 \longrightarrow R-CH_2CH_2-COOH$$

هيدروكربون حمض دهني

$$R-CH_2-CH_2-COOH + HS-CoA \xrightarrow{ATP} R-CH_2-CH_2-CO-SCoA + AMP + 2Pi$$

ب-يتحول الحمض الدهني المرتبط بالـ CoA إلي حمض دهني غير مشبع وذلك بنزع ذرتين هيدروجين.

$$R-CH_2-CH_2-CO-SCoA \xrightarrow{-2H} R-CH = CH-CO-SCoA$$

ج-حدوث تأدرت للحمض الدهني غير المشبع ويتحول إلي حمض دهني به مجموعة هيدروكسيل في الوضع بيتا.

$$R-CH = CH-CO-SCoA \xrightarrow{HOH} R-CHOH-CH_2-CO-SCoA$$

د-يحدث أكسدة لمجموعة الهيدروكسيل إلي مجموعة كيتون ويتكون حمض كيتوني $\alpha.$ –keto acid

$$R-CHOH-CH_2-CO-SCoA \xrightarrow{O2} R-\ CO - CH_2-CO-SCoA$$

هـ-يحدث تفاعل بين الحمض الكيتوني والمرافق الإنزيمي CoA ويتكون حمض يقل في عدد ذرات الكربون بمقدار ذرتين .

$$R-\ CO - CH_2-CO-SCoA + HSCoA \longrightarrow R-CO-SCoA + CH_3-CO-SCoA$$

وبهذا يتم إزالة ذرتين كربون من سلسلة الحمض الدهني في كل دورة أكسدة ، ثم يتحلل حمض الخليك داخل الخلية لينتج الكربون والطاقة اللازمين لعمليات التخليق الحيوي، والحمض الدهني المتبقي والذي نقصت منه ذرتي كربون تتم مهاجمته عدة مرات في خطوات متتالية لإنتاج وحدات من حمض الخليك وبذلك يتحلل المركب إلي

وحدات أصغر يمكن للخلية استخدامها لإنتاج الطاقة ولعمليات التخليق الحيوي داخل الخلية الميكروبية.

ثالثاً: الأكسدة من النوع أوميجا Omega oxidation

في هذا النوع من الأكسدة للأحماض الدهنية يحدث أكسدة للذرة الأخيرة من الحمض الدهني أي الذرة أوميجا وبذلك يتكون حمض دهني ثنائي الكربوكسيل ، بعد ذلك يحدث أكسدة للحمض الدهني من الطرفين إما بالطريقة ألفا أو بيتا.

تحلل المركبات العطريةDegradation of aromatic compounds

علي الرغم من أن المركبات العطرية نادرا ما توجد بكميات كبيرة ضمن المواد العضوية التي تصل إلي التربة، فإنها تمثل في الواقع مجموعة هامة من المركبات التي تهاجمها الميكروبات فالوحدات البنائية العطرية هي أساس التركيب البنائي للكميات الكبيرة من اللجنين المتحلل وكذا لمركبات الدبال، فالأنسجة النباتية تحتوى علي مركبات بسيطة ومركبات أحادية الحلقات ذات حلقة بنزين واحدة كما تحتوي أيضاً علي جزيئات أكثر تعقيدا مثل مركبات الفلافونويد والألكالويد والزيوت العطرية والتانينات كما أن الفطريات والأكتينوميسيتات كثيرا ما تقوم بإنتاج مركبات الميلانين وهي عبارة عن بوليمرات من الوحدات العطرية، وكثير من الأحماض الأمينية في المواد البروتينية وكثير من المركبات الصناعية المستخدمة في مقاومة الأفات عبارة عن هيدروكربونات عطرية متحورة، كل هذه المواد المتنوعة تعمل علي إمداد مجموع الكائنات الدقيقة بمجموعة كبيرة من المواد التي تقوم باستخدامها وتحليلها علاوة علي ذلك فإن كثيرا من المواد العطرية له أثر سام علي النباتات الخضراء، وفي الواقع فإنه تحت بعض الظروف الخاصة التي تؤدي إلي تأخير نشاط التمثيل الغذائي الهوائي، فإن هذه المركبات تتراكم في بعض مواقع التربة بحيث تصل إلي تركيزات تسبب أضرارا للنباتات الراقية، وقد تحتوى التربة علي هذه المركبات بتركيزات تصل إلي ٢–٨ ميكروجرام في جرام التربة، وعادة ما تقدر كمية ومدي تحلل هذه المركبات عن طريق قياس CO_2 المنطلق أو O_2 المستهلك أو عن طريق تقدير مدي اختفاء المادة المختبرة، وفي هذه الحالة الأخيرة كثيرا ما تستخدم طرق التحليل

الكروماتوجرافي للغاز أو الطرق الكروماتوجرافية الأخرى لهذا الغرض، ويوجد أنواع كثيرة من ميكروبات التربة تقوم بتكسير الهيدروكربونات العطرية ومشتقاتها، كما أنه يوجد كائنات دقيقة معينة تحلل بعض المركبات مثل الفينول والنفتالين والأنثراسين المحتوية علي ح لقة أو اثنتين أ و ثلاث حلقات من البنزين علي التوالي، ويبدو أن البكتريا هي أكثر المجموعات الميكروبية قدرة علي معدنة مثل هذه المركبات كالأنواع التابعة ***Pseudomonas, Mycobacterium, Acinetobacter, Arthrobacter* and *Bacillus*** ولكن جنس ***Nocardia*** كثيرًا ما يكون له الدور البارز في هذا المجال، وقد تشارك الفطريات والإستربتوميسيتات تحت ظروف معينة في تحليل الهيدروكربونات العطرية، فالكائنات الدقيقة الخيطية يمكن أن يكون لها دور هام في تحليل بعض أنواع المركبات العطرية التي تدخل في تركيب الدبال، وتنتشر البكتريا المحللة للهيدروكربونات العطرية هوائياً انتشارا واسعاً، فتحتوي جميع أنواع الأراضي تقريباً علي كائنات دقيقة تنمو علي حساب العديد من هذه المركبات فأعداد البكتريا ذات القدرة علي استخدام المركبات الهيدروكربونية مثل البنزين والتولوين والفانيلين والفينانثرين تتراوح بين ١٠^{٢} إلي ١٠^{٦} في الجرام ويتوقف ذلك علي موقع التربة ونوع المادة الكيميائية، وبالرغم من اختلاف المراحل الأولى من خطوات التحلل فإن التفاعلات تسير في اتجاه تكوين القليل من النواتج الوسطية الأساسية التي يتم تمثيلها هي الأخرى بخطوات قليلة مماثلة، ومن هذه النواتج الوسطية الأساسية الشائع وجودها هي الكاتيكول وحمض البروتوكاتويك وحمض الجنتسيك إلي درجة أقل وكل من هذه المركبات الثلاثة تتميز جزيئاتها بوجود مجموعتين من الهيدروكسيل .

Catechol Protocatechuic acid Gentisic acid

شكل (١-٣٠) : تركيب بعض المركبات الناتجة من تحلل المركبات العطرية

وغالباً ما تتضمن المرحلة الأولى من مراحل تمثيل المركبات العطرية إحداث تحويرات أو إزالة المجموعات المتصلة علي حلقة البنزين وإحلال مجموعات من الهيدروكسيل محلها، علي ضوء وجود الكثير من المركبات التي تلوث البيئة والمركبات العطرية الطبيعية فإن هناك عدة نقاط أساسية هامة تنطبق علي هذه المرحلة الأولى من مراحل التحلل هي:

(أ)غالباً ما تتحول مجموعات الميثايل إلي مجموعات كربوكسيل قبل كسر حلقة البنزين وهو تفاعل يستمر علي خطوات.

$$R-CH_3 \longrightarrow R-CH_2OH \longrightarrow R-CHO \longrightarrow R-COOH$$

وأحياناً لا تتم إزالة مجموعة الميثايل قبل فتح الحلقة.

(ب) كثيرًا ما يتم إزالة مجموعة الكربوكسيل قبل كسر الحلقة ولكن لا يشترط حدوث ذلك دائماً.

(جـ) تحل مجموعة الهيدروكسيل محل مجموعة الميثوكسيل لتكون الفورمالدهيد.

$$R-OCH_3 + \tfrac{1}{2} O_2 \longrightarrow R-OH + HCHO$$

(د) عادة ما يقصر طول السلاسل الأليفاتية الطويلة وينتج عنها مركبات ينقصها ذرة واحدة أو ذرتين من الكربون ، وهذا يتم في العادة علي خطوات بواسطة الأكسدة من نوع بيتا كما سبق ذكره.

$$R-(CH_2)_9\ COOH \longrightarrow R-(CH_2)_7\ COOH + CH_3 - COOH$$

(هـ) الكلورينات الموجودة في كثير من مبيدات الحشائش يحل محلها إما مجموعات من الهيدروكسيل أو الأيدروجين أو قد تبقى علي الحلقة بعد فتحها ثم تتم إزالتها بعد ذلك.

(و) مجموعات النيترو (NO_2-) التي تتميز بوجودها في بعض مبيدات الأفات أو المخلفات الصناعية يمكن أن يحل محلها مجموعات الهيدروكسيل، ثم تظهر بعد ذلك في صورة نتريت كما يمكن أن يختزل مجموعات النيترو المتصلة بحلقة البنزين إلي مجموعة أمين (NH_2-).

ولكي يحصل الميكروب النشط علي الطاقة والكربون من هذه التحولات فيجب أن يقوم بكسر الحلقة وتحويل نواتج التكسير إلي مركبات تدخل في عمليات التمثيل الغذائي

الخاصة بإنتاج الطاقة والتخليق الحيوي ويلزم دائما لفتح حلقة البنزين إضافة الأكسجين إليها والذي تحصل عليه الميكروبات من O_2.

ويمكن لكثير من الكائنات الدقيقة أن تقوم بعملية التمثيل الغذائي المشترك عند إمدادها بالمركبات العطرية ولكن لا يمكنها أن تنمو بقوة عن طريق تحليل هذه المركبات حيث أن عملية التحلل لا تتم إلي الدرجة الكافية لإنتاج الكربون والطاقة اللازمين للنمو، ويقوم كثير من الميكروبات وخصوصا الفطريات بإضافة مجموعة الهيدروكسيل دون أن يكون لها القدرة علي فتح حلقة البنزين، كما يمكن أيضاً عن طريق التمثيل الغذائي المشترك أن تقوم الميكروبات بفتح الحلقة وكسر الروابط الأثيرية وإزالة مجموعات النيترو، ومثل هذه التحولات تعتبر ذات أهمية خاصة في تحليل مبيدات الأفات والجزيئات السامة الناشئة عن عملية التمثيل الغذائي المشترك والتي تظهر في التربة ويستمر وجودها لعدة سنوات قد تتجاوز في بعض الأحيان عشر سنوات. وتشكل المركبات الكلورونية ثنائية الفينيل وكذا الألكالينات ثنائية الفينيل أهمية كبيرة حيث أن المجموعة الأولى تتضمن مركبات PCB (Polychlorinated Biphenyl) الشائعة الاستعمال في الصناعة، بينما تشتمل المجموعة الثانية علي DDT (Dichloro-Diphenyl-Trichloroethane) والمبيدات المشابهة له. وتقاوم الجزيئات الكلورينية التحلل فتبقى في التربة لفترات طويلة ، بينما تقوم الكائنات الدقيقة بتمثيل كل من المركبات الكلورينية ثنائية الفينيل والـ DDT إلي حد ما، وباستثناء الكلورينات فإن أياً من المجموعتين الكيميائيتين يتم تحليلهما بسرعة بينما تهاجم الميكروبات نظائرها الكلورينية ببطء وبصفة أساسية عن طريق عملية التمثيل الغذائي المشترك.

الفصل الثاني

دور الكائنات الحية الدقيقة فى تحولات عنصر النيتروجين فى التربة

يعتبر النيتروجين من عناصر التربة الغذائية التي تحتاج إليها النباتات بكميات كبيرة، حيث تقوم هذه النباتات بتمثيل مركبات هذا العنصر الغير عضوية مثل النترات والأمونيوم، ومن ناحية أخرى فإن أغلبية المواد النيتروجينية الموجودة في التربة والتي تضاف علي هيئة مخلفات نباتية توجد علي حالة عضوية وغير قابلة لاستخدام النباتات بدرجة كبيرة.

معدنة مركبات النيتروجين العضوية

Mineralization of organic nitrogen compounds

تعرف عملية تحول النيتروجين العضوي إلي صور غير عضوية بعملية معدنة النيتروجين والتي تتشابه مع عملية انطلاق CO_2 من المواد الكربوهيدراتية في كون هذين النوعين من التحولات ينتج عنهما انطلاق العناصر الغذائية علي صورة غير عضوية، كما تتشابه العمليتان أيضاً في كونهما السبل الوحيدة التي تهيئ إعادة تكوين وإنتاج هذه العناصر في صورة قابلة لاستخدام النباتات النامية. وينتج عن عملية المعدنة تكون كل من الأمونيا ثم النترات بالأكسدة واختفاء المواد العضوية النيتروجينية، حيث يحدد إنتاج كلا المركبين نوعين مستقلين من العمليات الميكروبية وهما "النشدرة" وهى عبارة عن تكون الأمونيا من مركبات النيتروجين العضوية و"التأزت" وهى عبارة عن أكسدة الأمونيا إلي نترات.

تحلل البروتين Protein decomposition

تتكون البروتينات من سلسلة طويلة من الأحماض الأمينية تشترك جميعها في التركيب الكيميائى $H_2N-CH-R-COOH$ ويوجد أكثر من عشرون حمض أمينى مختلف ترتبط معا برابطة ببتيدية (CO–NH) مكونة سلاسل ببتيدية والتي بدورها ترتبط معا مكونة جزئ البروتين.

وتعرف الإنزيمات التي تحلل الروابط الببتيدية الموجودة في البروتينات بإنزيمات البروتييز والتي منها نوعان الأول يحلل مائيا الروابط الببتيدية الطرفية في

السلسلة الببتيدية وتعرف بإنزيمات الببتيديز الخارجية، والنوع الثانى يحلل الروابط الببتيدية الداخلية في السلسلة الببتيدية وتعرف بإنزيمات الببتيديز الداخلية.

ونظراً لكبر حجم جزئ البروتين بدرجة لا تسمح بدخوله إلي الخلية الميكروبية تقوم الكائنات الحية الدقيقة بإفراز بعض الإنزيمات الخارجية المحللة للبروتينات، حيث تتم الخطوة الأولى في تحليل البروتينات خارج الخلية الميكروبية فتعمل الإنزيمات علي تكسير جزئ البروتين لوحدات أبسط إلي صورة قابلة للتمثيل حيث توضح المعادلات التالية ذلك.

Protein ⟶ Proteose ⟶ Peptone

Polypeptide ⟶ Dipeptide ⟶ Amino acids

وبمجرد تكسير جزئ البروتين خارج الخلية تجد مشتقاته المتكونة طريها إلي داخل الخلية حيث يستمر الميكروب في تمثيلها غذائيا.

ومن المعروف أنه يلزم تمثيل أى مادة غذائية وإجراء التحولات العديدة عليها بداخل الخلية حتى يتمكن الميكروب من استخدام الطاقة الناتجة في النمو، وتتضمن الميكروبات المحللة للبروتينات بكتريا هوائية بالإضافة إلي بعض الأنواع الاختيارية واللاهوائية حتماً، وتتكون العديد من المركبات الوسطية خلال عملية تحلل البروتين هوائيا والتي تختفي بسرعة حيث تكون في النهاية CO_2 وأمونيا وكبريتات وماء، ويتكون عند تحلل المواد الغنية في النيتروجين تحت الظروف اللاهوائية مركبات ذات روائح عفنة ويطلق علي مثل هذه العملية بالتعفن **Putrefaction** حيث تتمثل النواتج النهائية لعمليات التحلل اللاهوائية في الأمونيا، الأمينات، CO_2، الأحماض العضوية، مركبات الميركبتان وكبريتيد الأيدروجين.

الميكروبات المحللة للبروتين Proteolytic microorganisms

أهم الميكروبات المحللة تشمل معظم أنواع البكتريا التى تنتمي إلي أجناس ***Pseudomonas, Bacillus, Clostridium, Serratia*** **and** ***Micrococcus*** كما تحلل العديد من الفطريات البروتينات والأحماض الأمينية وغيرها من المركبات النيتروجينية بسهولة منتجة كميات كبيرة من الأمونيا، وتشمل الأجناس المحللة كل من ***Penicillium, Mucor, Aspergillus, Alternaria***

Rhizopus and ، كما تقوم أفراد لا حصر لها من مجموعة الأكتينوميسيتات وخصوصاً جنس *Streptomyces* بإنتاج الإنزيمات الخارجية المحللة للبروتينات، ومما هو جدير بالذكر أن تحلل المواد البروتينية في الأوساط الطبيعية (التربة مثلا) يحدث ببطء ويرجع ذلك إلي أن المواد البروتينية تكون معقد مع اللجنين الموجود في الدبال، وفيما يلي التقسيم العلمي لبكتريا *Serratia* وفطر *Mucor* والتي لم يذكر تقسيمهم من قبل في هذا الفصل.

Scientific classification

Domain:Bacteria

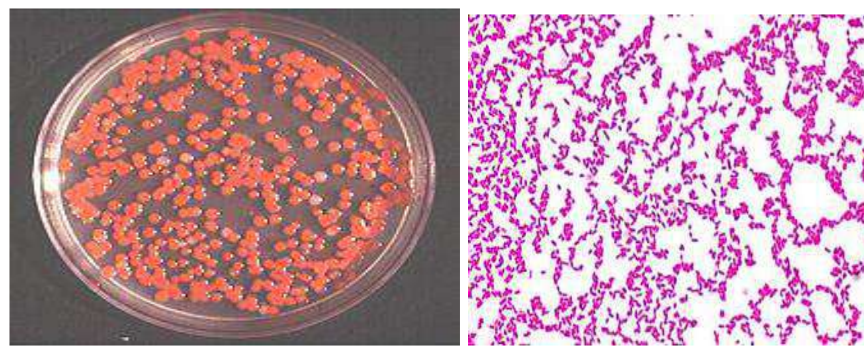
Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Enterobacteriales

Family:Enterobacteriaceae

Genus:*Serratia* **Species: *Serratia marcescens***



شكل (٢-١) : بكتريا *Serratia marcescens*

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Division:Zygomycota

Class:Mucormycotina

Order:Mucorales **Family:Mucoraceae**

Genus:*Mucor*

Species: ***Mucor mucedo***



شكل (٢-٢) : فطر ***Mucor mucedo***

ومركبات النيتروجين العضوية أبطأ في التحلل في التربة مقارنة بالتحلل الذى يحدث في البيئات المعملية أيضاً، يوجد تفسير أخر يفسر بطء تحلل المواد البروتينية في التربة وهو أن معادن الطين تعمل علي حفظ أو مسك مركبات النيتروجين بين البللورات أو أن معادن الطين تقوم بادمصاص مركبات النيتروجين العضوية أو يحدث ادمصاص للإنزيمات المحللة للبروتين بواسطة معادن الطين مما يقلل من نشاط الإنزيمات في التربة، وتستخدم الأحماض الأمينية الناتجة عن نشاط إنزيمات البروتييز كمصادر للكربون والنيتروجين بواسطة الميكروبات الغير ذاتية التغذية وينطلق نيتروجين الأحماض الأمينية علي صورة أمونيا التي يستخدمها الميكروب كمصدر للنيتروجين ويتم تحلل الأحماض الأمينية إما بنزع مجموعة الأمين ونزع مجموعة الكربوكسيل.

أولاً: نزع مجموع الأمين Deamination

(أ) النزع المباشر لجزئ الأمونيا مع تكوين حمض عضوى غير مشبع

$$R-CH_2-\underset{\displaystyle |}{\overset{\displaystyle NH_2}{CH}}-COOH \longrightarrow R-CH=CH-COOH+NH_3$$

Amino acid **Unsaturated acid**

(ب) نزع الأمونيا بالأكسدة مع تكوين حمض عضوى كيتوني

$$\begin{array}{l} NH_2 \\ | \\ R-CH-COOH + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow R-CO-COOH + NH_3 \end{array}$$

α−Keto acid

(جـ) نزع الأمونيا بالاختزال مع تكوين حمض عضوى أليفاتي

$$\begin{array}{l} NH_2 \\ | \\ R-CH-COOH + 2H \longrightarrow R-CH_2-COOH + NH_3 \end{array}$$

Aliphatic acid

(د) بالتحلل المائى مع تكوين حمض عضوي كحولي

$$\begin{array}{l} NH_2 \\ | \\ R-CH-COOH + H_2O \longrightarrow R-CHOH-COOH + NH_3 \end{array}$$

α − Hydroxyl acid

(هـ) باستخدام حمضيين أمينيين

Stickland reaction

$$\begin{array}{l} NH_2 \qquad\qquad\qquad\qquad NH_2 \\ | \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ R-CH-COOH + R-CH-COOH + H_2O \longrightarrow R-CO-COOH \\ \quad + R-CH_2-COOH + 2NH_3 \end{array}$$

حيث يقوم الميكروب باستخدام حمضين أمينيين في نفس الوقت أحدهما يتأكسد والأخر يختزل.

(و) التحلل المائي مع نزع مجموعتى الأمين والكربوكسيل ويتكون كحول

Hydrolytic deamination & Decarboxylation

$$R-CH(NH_2)-COOH + H_2O \longrightarrow R-CH_2OH + CO_2 + NH_3$$

Alcohol

ثانياً: نزع مجموعة الكربوكسيل ويتكون أمين Decarboxylation

$$R-CH(NH_2)-COOH \longrightarrow R-CH_2-NH_2 + CO_2$$

عملية التـأزت Nitrification

تنتهي التفاعلات الخاصة بمعدنة نيتروجين التربة العضوى بتكوين الأمونيوم التـي تعتبر أكثر صور عنصر النيتـروجين المعدنيـة اختـزالا، والتـي تستخدم كنقطـة انطلاق لحدوث العملية التي تعرف بعملية التأزت التـي تؤدي إلـي تكون النيتريت أو النترات، ويمكن تمييز خطوتين منفصلتين تماما أثنـاء حدوث عمليـة التـأزت، الخطوة الأولى تتمثل في أكسدة أولية للأمونيا إلي نيتريت ثم يتلوها تحول المركب الأخير إلي نترات.

ومن أجناس بكتريا التأزت التي تم التعرف عليها في التربة:

١. بكتريا تؤكسد الأمونيا إلي نيتريت مثل:

Nitrosomonas , Nitrosospira, Nitrosococcus

٢. بكتريا تؤكسد النيتريت إلي نترات مثل:

Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrospira

وفيما يلي التقسيم العلمي لبكتريا التأزت:

Kingdom:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Alphaproteobacteria

Order:Rhizobiales

Family:Nitrobacteraceae

Genera:

Nitrobacter ,Nitrosomonas ,Nitrococcus, Nitrospira

Nitrosococcus , Nitrosospira.

ويعتبر *Nitrobacter, Nitrosomonas* من أكثر هذه الأجناس انتشاراً، ولاشك أنها تعد من أهم ميكروبات التأزت الذاتية التغذية الكيميائية ومن أنواع هذه الميكروبات *Nitrosomonas europaea* و *Nitrobacter winogradskyi*، وتتميز بكتريا التأزت الذاتية التغذية باعتمادها الكلى علي المواد غير العضوية في الحصول علي الطاقة حيث أنها لا تتمكن من استخدام مركبات الكربون العضوية لهذا الغرض، بالإضافة إلي عدم مقدرتها علي الحصول علي الطاقة اللازمة من أكسدة أى مواد غير عضوية لا تحتوي علي النيتروجين.

Genus:*Nitrosomonas*

Species

N. aestuari , N. communis,N. europaea ,N. eutropha ,

N. halophile , N. marina , N. nitrosa, N. oligotropha ,

N. stercoris

N. ureae

Genus:*Nitrobacter*

Species

N. alkalicus ***N. hamburgensis***

N. vulgaris ***N. winogradskyi***

وتتمثل الخطوة الأولى في عملية التأزت بواسطة البكتريا الذاتية التغذية الكيميائية والذي تقوم به بكتريا ***Nitrosomonas*** في التفاعل التالي:

$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + Energy$$

ثم تقوم بكتريا ***Nitrobacter*** بأكسدة النيتريت إلى نترات كما في التفاعل التالى:

$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3 + Energy$$

ولا تقوم الميكروبات بالحصول علي كل الطاقة المتاحة نتيجة لعمليات الأكسدة ولكنها تستخدم جزءاً قليلا منها ويتحدد مدي كفاءة هذه الميكروبات في استخدام الطاقة علي النسبة المستخدمة، حيث تبلغ كفاءة ميكروبات ***Nitrosomonas*** في استخدام الطاقة المنطلقة حوالى ٥-١٤ ٪ ، بينما كفاءة ميكروبات ***Nitrobacter*** حوالى ٥- ١٠٪ ، وتزداد كفاءة الميكروبات في استخدام الطاقة في المزارع الحديثة العمر التي تمر بطور النمو اللوغاريتمي عنه في حالة المزارع القديمة، وتشير انخفاض نسبة C:N للميكروبات المؤكسدة للأمونيا عن الأخرى المؤكسدة للنيتريت إلي كفاءة الأولى في الحصول علي الطاقة الناتجة من عمليات الأكسدة حيث تقل الكمية المؤكسدة من مركبات النيتروجين اللازمة لتكون الخلية الواحدة.

ويتواجد كلاً من ***Nitrosomonas, Nitrobacter*** معاً في معظم الأوساط الطبيعية حيث لا يسمح ذلك بتراكم النيتريت بتركيزات قد تكون سامة للنباتات، وقد ترتفع أعداد هذه الميكروبات بدرجة كبيرة حيث تصل إلي $١٠^{٧}$ في الجرام نتيجة لإضافة أملاح الأمونيوم، وفي المناطق الباردة تزداد أعداد هذه الميكروبات خلال فصل الربيع الدافئ بينما تنخفض بدرجة ملحوظة خلال شهور الصيف الحارة الجافة وأثناء شهور الشتاء الباردة، حيث يعمل كل من الجفاف والتجمد علي خفض أعداد هذه الميكروبات.

وفي أغلب الظروف لا يتراكم النيتريت في التربة في حين تعتبر النترات أكثر الأنيونات المحتوية علي النيتروجين انتشاراً، ويؤثر وجود النيتريت وبقاؤه في التربة علي الإنتاج الزراعي وذلك نظراً لسميته للنباتات والميكروبات. ومن ناحية أخرى قد يتراكم النيتريت في ظل ظروف بيئية معينة كما في حالة الأراضى القلوية حيث

تتوقف عملية تكوين النترات من $(NH_4)_2SO_4$ كنتيجة لإضافة مثل هذا المركب بمعدلات كبيرة، ولا يعد ذلك تثبيطاً لعملية أكسدة الأمونيا بقدر ما هو توقف لأكسدة النيتريت المتكون إلي نترات حيث يبقى المركب الأول طالما تواجدت الأمونيا بتركيزات مرتفعة.

ولقد أثبتت المشاهدات الحقلية أن تراكم النيتريت يعزي لعاملين هما القلوية وتواجد الأمونيا بتركيزات مرتفعة، ويتناسب تراكم النيتريت طردياً في الأراضى الجيرية مع معدل إضافة الأمونيا. وفي حالة الاستخدام الدائم للأسمدة الكيميائية يزداد التأثير بانخفاض درجة تركيز أيون الأيدروجين، فيؤدي استخدام الأمونيا اللامائية الشائعة الاستعمال كسماد إلي ارتفاع الأس الأيدروجيني والذى يصل أحياناً إلي ٩-٩,٥، ويؤدي توفر كل من الأمونيا كمصدر للنيتروجين وارتفاع الأس الأيدروجيني إلي تراكم النيتريت كما أن تحلل المركبات النيتروجينية أو اليوريا وانطلاق الأمونيا قد يؤدي إلي تكون النيتريت مرحلياً نتيجة لتثبيط عملية تكون النترات، وبانخفاض درجة ال pH أو تركيز الأمونيا نتيجة استمرار عملية التأزت يتلاشى التأثير المثبط ويبدأ إنتاج النترات لذلك فإن السمية الناتجة عن النيتريت والتي تنشأ من وقت لأخر قد تكون لها أهمية من الناحية العملية.

التأزت بواسطة الكائنات غير ذاتية التغذية(الهيتيروتروفية)

تستطيع أعداد كثيرة من الميكروبات غير الذاتية التغذية والأكتينوميسيتات من تكوين أثار من النيتريت في البيئات المعملية المحتوية علي أملاح الأمونيوم، وكقاعدة عامة لا يتكون النيتريت إلا عقب فترة من النمو النشط لهذه الميكروبات وفي البيئات المعملية المحتوية علي الأمونيا بكميات تفوق احتياجات الميكروبات الخاصة بعمليات التمثيل أى عندما تكون نسبة C:N منخفضة ولا تكون هذه الميكروبات النترات ، كما أن الأثار من مركبات النيتروجين غير العضوية التي يتم أكسدتها قليلة بدرجة كبيرة مقارنة مع أكسدة ٢٠٠٠ جزء في المليون أو أكثر بواسطة بكتريا *Nitrosomonas* ، ويمكن للعديد من الفطريات أكسدة النيتريت مما يشير إلي إمكانية تواجد كل من مجموعتي الكائنات غير الذاتية التغذية والتي تعمل سويا علي تحويل الأمونيا في النهاية إلي نترات، ومن ناحية أخرى قد تتمكن بعض

أنواع البكتريا مثل سلالات ***Arthrobacter*** وبعض الفطريات مثل ***Aspergillus flavus*** من إنتاج النترات في البيئات المعملية المحتوية علي الأمونيا كمصدر وحيد للنيتروجين.

وعموماً لا تستفيد الكائنات غير الذاتية التغذية أثناء نموها من الطاقة الناتجة خلال عمليات الأكسدة هذه حيث وجد أن نواتج المركبات الأكثر أكسدة لا تظهر إلا عقب توقف النمو النشط لهذه الميكروبات.

التلوث بالنترات Nitrate pollution

علي الرغم من أهمية النترات كأيون ضرورى لتغذية النبات إلا أنها تعد أيضا من أهم المواد الملوثة للبيئة. فقد حكم علي النترات بأن تركيزها الزائد غير مرغوب فيه للدور الفعال الذي تلعبه فيما يلى :

(أ) ظاهرة **Eutrophication** أى انتعاش نمو الطحالب والنباتات في المسطحات المائية كنتيجة لزيادة المحتوي الغذائى للمياه.

(ب)إصابة الأطفال بمرض **Methemoglobinemia** والذي عادة ما يرتبط باستهلاك المياه والخضروات الغنية في النترات (التسمم بالنترات).

(جـ) إصابة الحيوانات بمرض **Methemoglobinemia** .

(د) تكون مركبات النيتروز أمين **Nitrosamine** .

أولاً: ظاهرة Eutrophication

تدعم البحيرات والأنهار نمو بعض أنواع الطحالب والنباتات الجذرية ولكن الكتلة الحية لهذه الكائنات غالباً ما تكون محدودة نظرا للافتقار إلي العناصر الغذائية غير العضوية ولكن عند إضافة المزيد من هذه العناصر الغذائية تزدهر هذه الطحالب والنباتات بدرجة تنشأ معها بعض الأوضاع غير المرغوب فيها والتي تعرف بظاهرة **Eutrophication** أى زيادة المحتوي الغذائى للمياه، وعلي الرغم من أن نقص الفوسفور في البحيرات يعد من أهم العوامل المحددة لنمو الكائنات التي تقوم بعملية التمثيل الضوئى إلا أن النيتروجين قد يلعب أيضاً دورًا مميزا في هذا الخصوص، لهذا فإن وصول النترات من الأراضى المجاورة عن طريق الماء الأرضى قد يشجع ازدهار

نمو الطحالب والنباتات، وتحدث هذه الظاهرة طبيعياً نتيجة لانتقال العناصر الغذائية من الحقول إلي المسطحات المائية المجاورة ولكن استخدام مركبات النيتروجين غير العضوية والعضوية في الزراعة وكذلك انطلاق النيتروجين عند استزراع الأراضى البكر يؤدي بلا شك إلي تزويد هذه المسطحات المائية بهذا العنصر المحدد لنمو الكائنات التي تقوم بعملية التمثيل الضوئى، ووجود النترات بتركيزات منخفضة للغاية تصل أحيانا إلي ٠,٣ جزء في المليون يكفي لنمو بعض الطحالب غير المرغوب فيها وذلك بشرط توفر بقية العناصر الغذائية الأخرى، ويعتبر النمو المتزايد للطحالب والنباتات في المسطحات المائية غير مرغوب فيه للأسباب التالية:

١- الحد من استخدام هذه المسطحات في أغراض الاستحمام.

٢- ارتفاع تكاليف تنقية مياه الشرب.

٣- موت الأسماك نتيجة لاستهلاك الأكسجين أثناء تحلل الطحالب الميتة.

٤- اكتساب مياه الشرب لمذاق وروائح غير مرغوب فيها.

٥- إعاقة الملاحة بواسطة القوارب الصغيرة نتيجة النمو الغزير للنباتات.

وفي بعض الأحيان يكون دور الأراضى في زيادة محتوى المسطحات المائية المجاورة من النترات قليل نظراً لعدم التوسع في عمليات الزراعة، إضافة المركبات النيتروجينية بكميات قليلة، أو وجود النيتروجين في صور أخرى، ولكن في أحيان أخرى تلعب الزراعة دورا هاماً في هذا الخصوص، ويعتبر التخلص من النواتج النهائية الصلبة أو السائلة لمعاملة مياه المجارى في المدن أو مخلفات المزارع الحيوانية الكبيرة علي مسطحات كبيرة من الأراضى مفيداً حيث يساعد علي تزويد النباتات بالعناصر الغذائية الأساسية، وعلي تكوين دبال التربة بمعدلات كبيرة نسبياً، وعلي تخلص محطات معاملة المخلفات والمزارع الحيوانية من الكم الأكبر من هذه المخلفات، وعلي الرغم من ذلك فهناك بعض المخاطر التي تلازم مثل هذا الإجراء المفيد والذي يعتبر إحداها تراكم النترات بتركيزات غير مرغوب فيها، لهذا نجد أن الإقلال من معدلات إضافة هذه المخلفات الصلبة تؤدي إلي نقص النترات المتكونة للتحولات الميكروبية لدرجة يصل معها التلوث بواسطة الماء الأرضى لأقل مستوي ممكن يسهل التغلب عليه.

ثانياً: Methemoglobinemia

يرجع اهتمام الصحة العامة بالنترات وبالتالى بعملية التأزت إلي المرض المعروف باسم Methemoglobinemia والذي ينتج عن استهلاك النترات الموجودة في الماء والطعام حيث تختزل إلي نيتريت في القناة الهضمية، وبوصول المركب الأخير للدم يتفاعل مع الهيموجلوبين مكونا مركب Methemoglobin والذي يؤدي بدوره إلي العجز الواضح في عملية نقل الأكسجين بالجسم. ولا تعتبر هذه العملية ذات تأثير يذكر في الأشخاص البالغين بينما قد تكون بالغة الخطورة للأطفال الرضع دون الثلاثة أشهر وللحيوانات المجترة كذلك، ونظراً لحدوث هذا النوع من المرض نتيجة لاستهلاك المياه ، كما أن العديد من الحالات المرضية وجد أنها ترتبط بتركيز النترات في مصادر مياه الشرب فقد أوصت منظمة الصحة العالمية والعديد من البلدان بعدم احتواء مياه الشرب علي تركيزات من النترات تتعدى ١٠ جزء في المليون، وهو التركيز الذي ثبت أن الحالات المرضية السابق ذكرها للأطفال تكون نادرة الحدوث عنده أو دونه، وقد تبدو النترات مهمة من الناحية الطبية نظراً لوجودها في الغذاء وفي علف الحيوانات، فلقد وجد أن بعض النباتات تستهلك النترات الموجودة في التربة وتختزنها بكميات كبيرة داخل خلاياها، وتتميز بعض الأنواع بتراكم النترات بها بدرجة كبيرة كما في حالة الخضروات مثل البنجر، السبانخ، الكرفس، الخس، محاصيل العلف مثل الذرة الشامية والذرة الرفيعة وحشيشة السودان والشوفان، وعلي الرغم من عدم توفر الأدلة علي حدوث مرض Methemoglobinemia في الأطفال نتيجة لنوع الغذاء المستخدم فإن عديداً من الأبحاث قد أجريت لإيجاد السبل الكفيلة للخفض من تكون النترات في التربة المنزرعة بالخضروات وللحد من تراكمها في المحاصيل التي قد تتسبب في ظهور بعض المشاكل، أما بالنسبة لقطعان الماشية فقد تبين حدوث حالات نفوق نتيجة لاحتواء علائق الحيوانات علي أنواع من النباتات تتميز باختزانها للنترات بكمية كبيرة.

ثالثاً: مركبات النيتروز أمين

لم تظهر حتى الأن مشاكل بيئية ناجمة عن مركبات النيتروز أمين وذلك لقلة احتمال تكونها في التربة، ولكن مدي فاعلية هذه المجموعة من المركبات يجعل تقييم الأضرار الناشئة عن وجودها ضرورية وتتميز هذه المركبات بالتركيب الكيميائى التالي :

$$\begin{matrix} R \\ \quad \rangle N - N = O \\ R' \end{matrix}$$

حيث ممكن أن تكون R و 'R عبارة عن مجموعتي ميثيل أو سلاسل كربونية مستقيمة أو حلقات أو مجاميع أخرى، ولقد جذبت هذه المركبات الانتباه حديثاً نظراً لأنه أصبح واضحاً أنها تسبب حدوث بعض الأمراض السرطانية والطفرات وبعض المظاهر الشاذة وأحياناً وفاة الأجنة، ويتطلب تكون هذه المركبات وجود أمينات ثانوية (R–NH–R) والنيتريت حيث يتم بينهما تفاعل يتمثل في عملية تكثيف بسيطة :

$$R - NH - R + NO_2^- \longrightarrow R - \underset{\displaystyle |}{\overset{\displaystyle R}{N}} - NO + OH^-$$

اختزال النترات وانطلاق الأزوت

Nitrate reduction & denitrification

تعمل تفاعلات دورة النيتروجين علي تحول عنصر النيتروجين من صورة لأخرى، فتؤدي عملية المعدنة إلي انطلاق النيتروجين علي صورة مركبات معدنية، أما عملية التمثيل فتحوله مرة أخرى إلي إحدى الصور العضوية غير القابلة للاستخدام، بينما تحول عملية التأزت العنصر من صورة مختزلة إلي صورة مؤكسدة، وتؤدي بعض التحولات التي تطرأ علي عنصر النيتروجين إلي فقد هذا العنصر الهام من التربة واللازم للإنتاج الزراعي، ويطلق علي الخطوات المتتابعة التي تؤدي في النهاية إلي فقد هذا العنصر بالتطاير بعملية انطلاق الأزوت والتي تعني اختزال

الميكروبات للنترات والنيتريت تحت الظروف اللاهوائية مع انطلاق النيتروجين الغازي وأكاسيد النيتروجين، ولا تعتبر عملية انطلاق الأزوت الطريقة الوحيدة التي تختزل بها الميكروبات النترات والنيتريت، فعند استخدام كلتا المادتين كمصدر للنيتروجين اللازم للنمو فإن الميكروبات تختزلهما إلي نشادر، واختزال من هذا القبيل يعمل علي تحويل النيتروجين إلي صورة ملائمة لتخليق الأحماض الأمينية داخل الخلية أما في عملية انطلاق الأزوت فيفقد النيتروجين في الجو ولا يدخل في تكوين الخلية وعملية اختزال النترات تتم كما يلى:

$$NO_3^- \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NH_4^+$$

وقد ينتج منها أيضا غاز N_2O , NO وهى عملية عكس التأزت، أما انطلاق النيتروجين فتحدث باختزال النترات إلى مجموعة من الأكاسيد النيتروجينية وغالبا تنتهى بغاز النيتروجين والتي تتم بوجود إنزيم Nitrate reductase الذي يختزل النترات إلى نيتريت والذي بدوره يختزل بواسطة Nitrite reductase إلى أكسيد النتريك NO والذي يختزل بواسطة Nitric oxide reductase إلى أكسيد نيتروز N_2O والأخير يختزل بواسطة Nitrous oxide reductase إلى غاز النيتروجين وتوجد هذه الإنزيمات في الغشاء السيتوبلازمي للخلية البكتيرية.

$$NO_3 \longrightarrow NO_2 \longrightarrow NO \longrightarrow N_2O \longrightarrow N_2$$

واختزال النيتريت الى أمونيا لم يعرف حتى الأن كيفية حدوث مثل هذه الخطوة، فعلي الرغم من أن الكثير من الميكروبات المختزلة للنترات تعمل علي تحويل الهيدروكسيل أمين إلي أملاح نشادر إلا أنه لا يتوفر الدليل الكافي لاعتبار أن الهيدروكسيل أمين هو المركب الوسطي لهذا التحول.

$$2HNO_3 \xrightarrow[-2H_2O]{+4H} 2HNO_2 \xrightarrow[-H_2O]{+2H} \begin{cases} 2NO \xrightarrow[-H_2O]{+2H} N_2O \xrightarrow[-H_2O]{+2H} N_2 \\ ? \longrightarrow [2NH_2OH] \longrightarrow 2NH_3 \end{cases}$$

وفي بعض الميكروبات يقوم الإنزيم المسئول عن اختزال النيتريت إلي نشادر باختزال الهيدروكسيل أمين، بل وتقوم الإنزيمات المختزلة لبعض المواد غير النيتروجينية في بعض الأحيان بتحويل الهيدروكسيل أمين إلي نشادر.

وعملية اختزال النترات وانطلاق الأزوت تعد إحدى طرق التنفس والتي تحل فيها النترات محل غاز الأكسجين لذلك يطلق عليها عملية التنفس النتراتي، في حين يطلق علي استخدام النترات كمادة غذائية بتمثيل النترات، وكلا التحولين السابقين يشتمل علي تفاعلات اختزال، ولكن الناتج النهائى لعملية التنفس النتراتى عبارة عن غازات متطايرة أما في حالة تمثيل النترات فإن الناتج النهائى يدخل في تركيب إحدى مكونات الخلية، ومن الناحية الزراعية تختلف علمية تمثيل النترات عن عملية انطلاق الأزوت في كون الأولى لا تعمل علي إزالة مركبات النيتروجين الصالحة للنبات بل تبقى في التربة.

انطلاق الأزوت Denitrification

لا تعتمد الميكروبات المسئولة عن عملية انطلاق الأزوت في نموها علي اختزال النترات فقط، حيث إن العديد منها يقوم بعمليات تحلل البروتينات والنشدرة وغيرها من التحولات الميكروبية الأخرى، وعلي ذلك فإن تواجد أعداد كبيرة من الميكروبات التي تقوم بعملية انطلاق الأزوت لا يعني في حد ذاته أن الظروف السائدة مواتية لهذه العملية، وتنتشر بكتريا انطلاق الأزوت في الأراضى المنزرعة حيث تصل أعدادها إلي المليون أو أكثر في الجرام الواحد من التربة، وتزداد كثافة هذه الميكروبات في المنطقة القريبة من جذور النباتات.

ولا تقوم كل من الفطريات والأكتينوبكتريا بنشاط يذكر في عملية انطلاق الأزوت حيث وجد أن ذلك يقتصر علي عدد محدود من البكتريا والتي من أهمها الأنواع التابعة لأجناس *Paracoccus, Bacillus licheniformis,* *Pseudomonas* ولو أن ميكروب *Thiobacillus denitrificans* وأحيانا أنواع من أجناس *Corynebacterium, Chromobacterium,* *Hyphomicrobium* و *Serratia* أيضاً تقوم بهذه العملية.

ومما هو جدير بالذكر أن الميكروبات تقوم بعملية اختزال النترات بهدف أكسدة المادة العضوية أو المعدنية للحصول علي الطاقة تحت الظروف اللاهوائية وتوضح المعادلات التالية اختزال النترات بواسطة الميكروبات.

١- الميكروبات الأوتوتروفية

$$S + 3KNO_3 + H_2O \longrightarrow H_2SO_4 + 3KNO_2 + Energy$$

$$5S + 6KNO_3 + 2H_2O \longrightarrow 4N_2 + K_2SO_4 + 4KHSO_4$$

٢- الميكروبات الهيتروتروفية

$$C_6H_{12}O_6 + 12KNO_3 \longrightarrow 6H_2O + 6CO_2 + 12KNO_2 + Energy$$

$$5CH_3-COOH + 8KNO_3 \longrightarrow 10CO_2 + 4N_2 + 6H_2O + 8KOH + Energy$$

وتعتبر بكتريا انطلاق الأزوت هوائية ولكنها تستخدم النترات كمستقبل للإلكترونات أثناء نموها في غياب الأكسجين، وعلي هذا فإن الأنواع النشطة من هذه البكتريا تنمو هوائيا في غياب النترات ولاهوائياً في وجودها، وتحول معظم بكتريا انطلاق الأزوت النترات في النهاية إلي N_2 ، حيث يمكنها استخدام النترات والنيتريت وNO أو NO_2 كمستقبلات للإلكترونات أثناء نموها حيث تختزل هذه المركبات إلي N_2 ولو أن هناك بعض الميكروبات التي تقوم بتفاعلات اختزال غير كاملة مثل ميكروب *Corynebacterium nephredii* الذي يختزل النترات والنيتريت وNO ولكن مع إنتاج غاز N_2O وليس N_2 في النهاية.

ولذلك فهناك ثلاثة أنواع من التفاعلات التي تؤثر بها الميكروبات علي النترات:

(ا) اختزالها إلي أملاح النشادر مع حدوث ظهور مؤقت في بعض الأحيان للنيتريت.

(ب) اختزالها غير الكامل وتراكم النيتريت في البيئة.

(جـ) اختزال النترات إلي نيتريت ثم تصاعد مركبات غازية في النهاية وهو ما يعرف بعملية انطلاق الأزوت.

تأثير العوامل البيئية علي عملية انطلاق الأزوت

يصل معدل حدوث عملية انطلاق الأزوت إلى مستويات أقل في الأراضى الفقيرة في الكربون عنه في الأراضى الغنية في المادة العضوية.

١- يعتبر الأكسجين من العوامل البيئية الهامة المحددة لنمو بكتريا انطلاق الأزوت حيث تؤثر التهوية علي نشاط هذه الميكروبات من وجهتين:

فمن ناحية نجد أن عملية انطلاق الأزوت تستمر فقط عند تواجد الأكسجين بكميات غير كافية، ومن ناحية أخرى فإن وجود الأكسجين يعد ضروريا لتكون مركبات النترات والنيتريت اللازمة لحدوث عملية انطلاق الأزوت، لذلك نجد أن حدوث عمليات فقد النيتروجين تتم بدرجة ملحوظة في أراضى الأرز الغدقة حيث تتأكسد الأمونيا إلي نترات في الطبقات السطحية المحتوية علي الأكسجين ثم تتحول النترات عند تغلغلها إلي الطبقات السفلية من التربة والتي تتوفر بها الظروف اللاهوائية إلي مركبات غازية بواسطة عملية انطلاق الأزوت، ويرتبط تطاير النيتروجين في الأراضي بمستوي الرطوبة، حيث تزداد عملية انطلاق الأزوت من النترات بارتفاع نسبة الرطوبة وكذلك في الأماكن سيئة الصرف.

٢- ويعتبر الأس الأيدروجينى من العوامل البيئية المؤثرة علي نشاط بكتريا انطلاق الأزوت، حيث وجد أن العديد من هذه البكتريا تعتبر حساسة للتركيز المرتفع من أيون الأيدروجين وعموماً فإنه من الصعب تحديد درجة الأس الأيدروجيني المناسبة لتطاير النيتروجين في جميع الأراضى.

٣- ويتأثر كذلك انطلاق N_2O من التربة بتركيز أملاح النترات، حيث يتصاعد هذا الغاز بدرجة كبيرة نسبيا عند وجود النترات بتركيزات مرتفعة أى عند توفر مستقبل الإلكترونات أى ملح النيتروجين بكميات تفوق معطي الإلكترونات أى المادة العضوية القابلة للتحلل ويختزل N_2O إلي N_2 بعد إضافة المادة العضوية.

٤-وتتأثر عملية انطلاق الأزوت بدرجات الحرارة، فتحدث هذه العملية ببطء عند ٢° م ولكنها تأخذ في الازدياد كلما ارتفعت درجة الحرارة حيث تصل إلي أقصى معدلاتها عند درجة ٢٥° م فأعلي، ويستمر حدوث هذه العملية بسرعة كبيرة عند درجات الحرارة المرتفعة حيث وجد أنها تستمر حتى ٦٠° م إلي ٦٥° م ولكنها تتوقف تماماً عند ٧٠° م، ومن النتائج الهامة لدراسة مشاكل التلوث البيئي ما يتوفر من أدلة علي أن الميكروبات تلعب دورا رئيسيا في دورات أكاسيد النيتروجين في الجو ولذلك فإنها تؤثر بدرجة غير مباشرة علي تعرض الحياة علي كوكب الأرض للتأثيرات الضارة للأشعة فوق البنفسجية، فعلي الرغم من السخط وعدم الرضا المتعلق بتسرب كميات من NO وNO_2 نتيجة لاحتراق الفحم والبترول والغازات الطبيعية وغيرها من

أنواع الوقود التي تستخدمها الصناعة والسيارات ، حيث يوجد بعض الأدلة التي تشير إلي أن الميكروبات تعمل علي انطلاق هذه الغازات الملوثة للجو بكميات قد تفوق بدرجة كبيرة وقد تصل إلي خمسة عشر أمثال الكميات الناتجة عن فعل الإنسان حيث تعمل ميكروبات التربة والبحار علي إنتاج NO الذي يتأكسد بدوره في الجو إلي NO_2 بل وتنتج هذه الميكروبات كميات أكبر من غاز N_2O ذاته، وعموماً لا يعتبر غاز N_2O بتركيزاته المنخفضة عند سطح التربة ضاراً ولكن عملية انطلاق الأزوت تنتج كميات من هذا الغاز تعتبر ذات أهمية بيئية وذلك لعلاقتها بمركب الأوزون O_3 الموجود في طبقات الجو العليا فيتكون الأوزون نتيجة لتفاعلات كيميائية ضوئية علي ارتفاعات كبيرة ويؤثر الضوء على تحلله.

$$O_2 \longrightarrow 2O \xrightarrow{2O2} 2O_3$$

$$O3 \xrightarrow{Light} O_2 \longrightarrow O$$

وعلي الرغم من تواجد الأوزون بكميات ضئيلة في طsبقات الجو العليا إلا أنه يعتبر حاجزا ضرورياً لحماية الكائنات الحية الدقيقة من التأثير الضار لفعل الأشعة الفوق بنفسجية عند أطوال موجات أقل من ٣٠٠ نانومتر وفي غياب الدرع الواقي للأوزون يزداد ظهور حالات من سرطان الجلد بدرجة كبيرة بل قد تعمل الأشعة فوق البنفسجية في هذه الحالة علي الحد من نمو النباتات وتعمل ميكروبات انطلاق الأزوت على إنتاج غاز N_2O الذي ينتشر في طبقات الغلاف الجوي حيث يتأكسد إلي NO.

$$N_2O+O \longrightarrow 2NO$$

وقد يعتبر هذا التفاعل حقيقة المصدر الأساسى لوجود غاز NO في طبقات الغلاف الجوي حيث يعمل كل من NO , N_2O الناتج من مثل هذا التفاعل علي تدمير بعض كميات من الأوزون الذي يستخدم كحزام واق ضد الفعل المدمر للأشعة فوق البنفسجية. والتفاعلات التالية توضح خطوات تدمير الأوزون وإنتاج NO_2، لهذا فإن ميكروبات التربة تلعب دوراً حرجاً علي الرغم من كونه غير مباشر في دورة الأوزون في طبقات الجو.

$$NO + O_3 \longrightarrow NO_2 + O_2$$

$$NO_2 + O_3 \longrightarrow NO + 2O_2$$

لذلك فالاستعمال الزائد للأسمدة النيتروجينية بهدف رفع القيمة الغذائية لسكان المناطق الفقيرة في كثير من دول العالم والحصول علي الطعام اللازم لمواجهة الزيادة المستمرة في تعداد السكان قد يؤدي إلي تراكم كميات كبيرة من النترات وبالتالى ينتج الكثير من غاز N_2O عند اختزال النترات المتكونة، وسوف يؤدى ذلك إلى تدمير كميات أكبر من الأوزون كما سبق ذكره مما يتسبب في ظهور حالات سرطان الجلد وغيرها من العواقب الوخيمة نتيجة الأشعة فوق البنفسجية التى تتسرب إلى طبقات الغلاف الجوى فى غياب غلاف الأوزون.

أهمية اختزال النترات فى التوازن البيئ

نظرا لان أملاح النترات شديدة الذوبان في الماء، وتفقد باستمرار من الأرض عن طريق ذوبانها فى الماء وحدوث عملية غسيل لها ، لذلك فبدون خطوة الاختزال فان كل النتروجين الموجود في الطبيعة سيتراكم في قاع الماء في صورة نترات وبذلك يؤدي إلى اختفاء كثير من الكائنات الحية فعملية الاختزال تؤدي إلى إعادة توليد النتروجين وانطلاقه في الهواء الجوي وبالتالي مهم في التوازن البيئي.

تثبيت نيتروجين الهواء الجوى Nitrogen fixation

من المعروف أن عنصر النيتروجين يتعرض للعديد من صور الفقد في التربة الزراعية، وصور الفقد هذه قد تكون بيولوجية أو غير بيولوجية منها امتصاص النباتات والغسيل مع ماء الصرف واختزال النترات وانطلاق الأزوت.

ويجب أن نشير إلي أن خصوبة التربة تتوقف بدرجة أساسية علي مقدار ما تحتويه من هذا العنصر الهام، ويتم تعويض ما يفقد من عنصر النيتروجين من التربة بإضافة الأسمدة النيتروجينية المعدنية والعضوية بالإضافة إلي ما تضيفه بعض أكاسيد الأزوت المتكونة بواسطة البرق والرعد إلا أن كل هذا لا يضيف إلي التربة إلا قدر ضئيل مما يفقد من هذا العنصر الهام، وتعتبر عملية تثبيت أزوت الهواء الجوي حيوياً هي العملية الأساسية والهامة في تعويض ما يفقد من عنصر النيتروجين من التربة.

ميكروبيولوجيا تثبيت النيتروجين

Microbiology of nitrogen fixation

يقوم بمثل هذه العملية البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة وبعض أنواع الأكتينوميسيتات التي تتمكن من استخدام النيتروجين الغازى إما أثناء معيشتها علي حالة حرة أى لا تكافليا أو أثناء تعايشها تكافلياً مع أحد النباتات الراقية، وسوف نناقش فيما يلي صور المعيشة التكافلية ذات الأهمية الزراعية والتي تنشأ بين البقوليات وبكتريا الريزوبيوم أو بين الميكروبات وبعض النباتات غير البقولية.

والقدرة على التثبيت بيولوجيا موجودة في عدد من الميكروبات بدائيات النواة والتي تتميز باحتوائها على إنزيم النيتروجينيز Nitrogenase والذي يستطيع العمل على الرابطة الثلاثية لغاز النيتروجين ويختزله مكوناً الأمونيا التي تثبت داخل جسم الميكروب وتستخدم لبناء البروتين كما يلى:

$$N_2 + 8H^+ + 8e^- + 16\ ATP \xrightarrow{\text{Nitrogenase}} 2NH_3 + H_2 + 16ADP + 16P$$

وعلى الرغم من أن الأمونيا (NH_3) هى الناتج المباشر للتفاعل إلا أنها تتأين سريعاً إلى (NH_4^+) ويحدث أحياناً أن تتحول الأمونيا إلى جلوتامات Glutamate من خلال مسار أيضى يعرف بالـ Glutamate synthetase pathway.

Glutamine synthetase

NH_3 +α−keto glutaric acid ⟶ Glutamic acid

Transamination to other α−keto organic acids ⟶

Protein

وفي الطبيعة فإن عملية تثبيت النيتروجين الجوي تلي عملية التمثيل الضوئي من حيث الأهمية لاستمرار الحياة علي الأرض، ويتم إنتاج الأمونيا في عملية التثبيت البيولوجية علي درجة الحرارة والضغط الجوي العادي، ولكن في الطريقة الكيماوية الشائع استخدامها وهي طريقة Haber& Bosch فان إنتاج الأمونيا باستخدام نيتروجين الجو وأيدروجين الغازات الطبيعية يتم في وجود حرارة وضغط مرتفعين مع عوامل مساعدة حسب المعادلة:

$$N_2 + 3H_2 \xrightarrow[\text{500°C at 250 atm.}]{\text{Ferric oxide}} 2NH_3$$

ونظرا للارتفاع الرهيب في أسعار الإنتاج في السنوات الأخيرة، فان الاتجاه الأن هو محاولة الاستفادة الكاملة من عملية التثبيت البيولوجي للحد من استعمال الأسمدة المعدنية الأزوتية التي أصبحت أسعارها في غير متناول اليد، كما يسبب الإفراط في استعمالها تلوثاً للمياه والأراضي.

ولتوضيح الأهمية الاقتصادية لعملية التثبيت البيولوجي في محصول زراعي واحد مثل الفول البلدي ، فأنه بفرض أن عملية التثبيت توفر ٦٠ وحدة أزوت / فدان ثمنها ١٢٠ جنيها فإن الوفر الناتج عن زراعة مليون فدان سيصبح١٢٠ مليون جنيه وينطبق القول علي المحاصيل البقولية الأخرى، ويتضح الأهمية الاقتصادية لعملية التثبيت عند مقارنة ثمن ١كجم نيتروجين بالسماد المعدني بثمن ١كجم نيتروجين الناتج من استعمال الطحالب أو الريزوبيا، حيث يصل في الحالة الأولي

إلي ما يزيد عن مائتان قرشاً، بينما لا يزيد ثمنه في الحالة الثانية عن خمسون قرشاً، ومن هنا يتضح الأهمية القصوى لعملية التثبيت البيولوجية للنيتروجين.

ولقد وجد أن كمية النيتروجين التي تثبتها الميكروبات من الهواء الجوي ما يقرب من ١٠ ^٨^ – ١٠ ^٩^ طن نيتروجين في السنة يتم تكوينها في التربة عن طريق دورة الأزوت الحيوية Biological nitrogen cycle لتعويض ما فقد من هذا العنصر الهام، وطبقاً للإحصائيات الحديثة فإن ما يزيد عن ٩٠٪ من نيتروجين التربة في العالم يسترجع ثانية عن طريق عمليات التثبيت الحيوية Biological fixation بواسطة الميكروبات، أما ما يثبت بواسطة غير الميكروبات فيقدر بحوالي ٠,٥٪ بواسطة البرق وبحوالي ٥٪ بطريقة هابر/بوش.

ويمكن تقسيم الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي كما يلي:

أولاً: تثبيت النيتروجين لا تكافلياً

Non – symbiotic N_2 fixation

يوجد العديد من سلالات الميكروبات بدائية النواة لها القدرة علي تثبيت النيتروجين الجوي لاتكافلياً ومنها:

١ – البكتريا الهتيروتروفية **Heterotrophs**

أ–بكتريا هوائية مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Azomonas, Azotobacter, Azotococcus, Beijerinckia, Derxia, Methylomonas,* and *Bacillus*.

ب–بكتريا احتياجاتها بسيطة للأكسجين مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Campylobacter and Azospirillum* .

ج– بكتريا لاهوائية اختياراً مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Enterobacter* and *Klebsiella* .

د– بكتريا لاهوائية مثل الأنواع التى تتبع أجناس *Desulfotomaculum, Desulfovibrio* and *Clostridium* .

٢ – البكتريا الممثلة للضوء **Phototrophs** ومنها نوعان:

(أ) بكتريا ممثلة للضوء غير أكسجينية: وهى بكتريا لاهوائية ولا ينطلق من التمثيل الضوئى لها أكسجين ومنها الأنواع التى تتبع أجناس *Rhodopseudomonas, Rhodomicrobium* and *Rhodospirillum* والتى تنتمي إلي البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية وجنس *Chromatium* من بكتريا الكبريت الأرجوانية وجنس *Chlorobium* التابع لبكتريا الكبريت الخضراء.

(ب) البكتريا الممثلة للضوء الأكسجينية وهى السيانوبكتريا (الطحالب الخضراء المزرقة) وهى التي لها القدرة على التمثيل الضوئى وإنتاج أكسجين ومنها الأنواع التى تتبع أجناس

Anabaena, Calothrix, Mastigolcadus, Nostoc, Plectonema.

وسنتناول باختصار شرح بعض الصفات لأهم الميكروبات المثبتة لأزوت الهواء الجوي لا تكافلياً فيما يلى:

بكتريا الأزوتوباكتر *Azotobacter*

يعتبر جنس الأزوتوباكتر *Azotobacter* من البكتريا السالبة لصبغة جرام ومن أكثر الميكروبات التي حظيت بنصيب وافر من الاهتمام والدراسة، ومع هذا فيجب ألا يؤخذ التوفر الشديد في المعلومات المتعلقة بهذه المجموعة من الميكروبات كدليل علي أنها أكثر الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي أهمية.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Pseudomonadales

Family: Azotobacteraceae

Genus:*Azotobacter*

Species

Azotobacter agilis *Azotobacter armeniacus*

Azotobacter sp. *AR* *Azotobacter beijerinckii*

Azotobacter sp. DCU26 — *Azotobacter chroococcum*

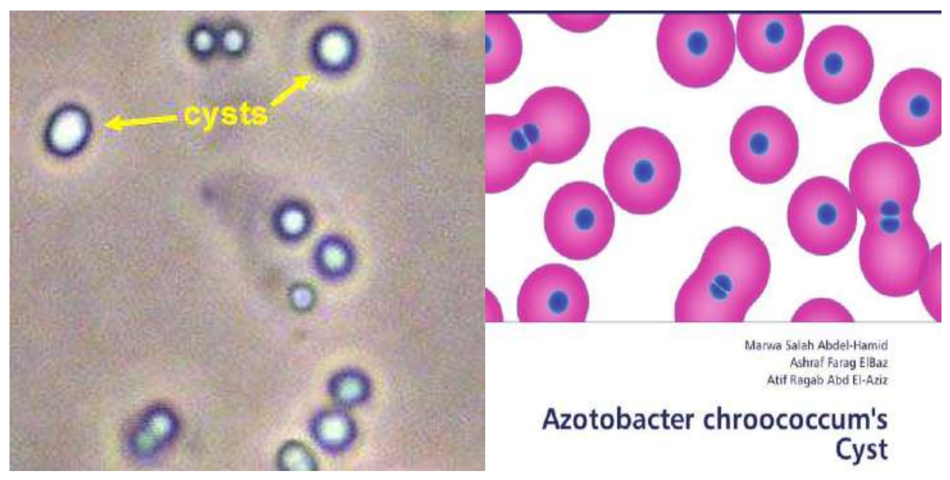
Azotobacter nigricans — *Azotobacter sp. FA8*

Azotobacter salinestris — *Azotobacter paspali*

Azotobacter vinelandii — *Azotobacter tropicalis*

وتتميز ميكروبات الأزوتوباكتر بأنها هوائية حتماً، حيث يعتبر معدل تنفسها من أكبر المعدلات مقارنة بالميكروبات الهوائية الأخرى والميكروب يكون صبغات صفراء أو بنية غامقة غير قابلة للذوبان بالبيئة. وهذا الميكروب يعيش أساساً في التربة، من أهم الأنواع التى تنتمي إلي هذا الجنس ما يلي:

متحرك – يفرز صبغة بنية غامقة	*Azotobacter chroococcum*
غير متحرك يفرز صبغة صفراء	*Azotobacter beijerinckii*
متحرك– يفرز صبغات خضراء مصفرة إلي حمراء أرجوانية – يحلل المانيتول	*Azotobacter vinelandii*
متحرك– يفرز صبغات خضراء مصفرة أو حمراء أرجوانية– لا يحلل المانيتول	*Azotobacter paspali*



شكل (٢–٣): بكتريا *Azotobacter chroococcum*

والأزوتوباكتر لا يستطيع أن يحلل الكربوهيدرات المعقدة مثل السليولوز، لذلك فإنه يحصل علي مصادر الكربون والطاقة من السكريات البسيطة أو الأحماض العضوية الناتجة في التربة بفعل الميكروبات الأخرى.

والأزوتوباكتر يستطيع أن يثبت كميات كبيرة من الأزوت وكلما كان الوسط خالى من أملاح النيتروجين يزداد معدل التثبيت ولكن لابد من توفر مصادر الطاقة اللازمة للتثبيت، ويعتبر عنصر الفوسفور هام جداً للأزوتوباكتر، وأنسب درجة حموضة لهذا الميكروب تتراوح من ٦,٥–٨ لذلك نجد أن الأراضى المتعادلة أو التى تميل قليلاً إلي القلوية يوجد بها الأزوتوباكتر بأعداد عالية جداً بعكس الأراضى الحمضية حيث تتواجد بكتريا الأزوتوباكتر بأعداد قليلة. وتستطيع بكتريا الآزوتوباكتر أن تعيش في صورة تعاونية مع بعض أنواع الطحالب الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا) مثل النوستوك والأنابينا حيث تمد هذه الطحالب الأزوتوباكتر بمصادر الكربون والطاقة مثل الكربوهيدات الناتجة من التمثيل الضوئى لهذه الطحالب.

بكتريا الأزوسبيللام *Azospirillum*

ميكروب ***Azospirillum*** ميكروب حلزونى قصير سالب لصبغة لجرام غير متجرثم متحرك بخصلة من الفلاجلات الطرفية وهو هوائى ولكن يثبت النيتروجين تحت الظروف قليلة الأكسجين Microaerophilic أى عند ضغط أكسجينى PO_2 أقل من ٠,٠١ جوى، والحرارة المثلى له من ٢٥–٣٠° م ويلائمه الوسط المتعادل حيث أنه حساس للحموضة، ويحصل الميكروب على الطاقة من أكسدة الأحماض العضوية مثل اللاكتيك أو الماليك، وينمو جيدا في بيئة الجلوكوز أو السكروز ولكنها تشجع نمو ميكروبات أخرى معه كما يعزل هذا الميكروب على بيئة نصف صلبة بها مالات الكالسيوم ومستخلص الخميرة.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Alphaproteobacteria

Order:Rhodospirillales

Family:Rhodospirillaceae

Genus:*Azospirillum*

Species

A. brasilense   A. canadense   A. doebereinerae

A. fermentarium   A. formosense   A. halopraeferens

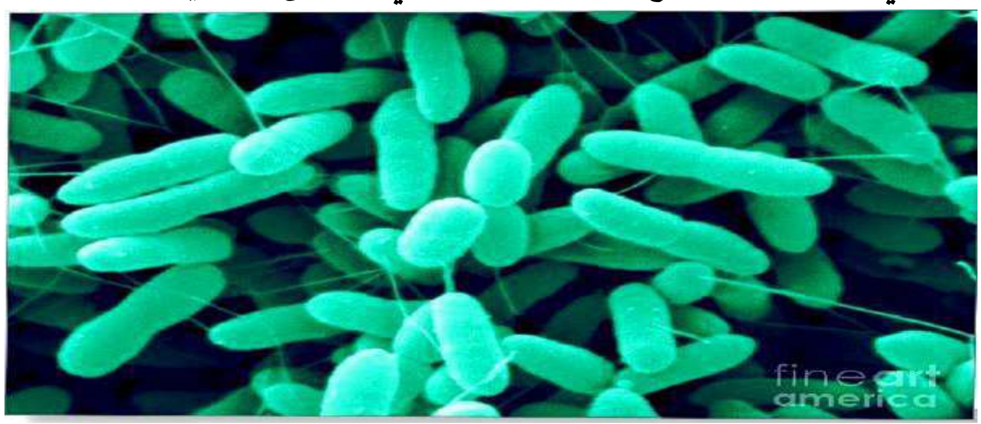
A. humicireducens   A. irakense   A. largimobile

A. lipoferum   A. melinis   A. oryzae   A. picis

A. rugosum   A. thiophilum   A. zeae

ويوجد نوعين في غاية الأهمية هما:

- ***Azospirillum brasilense*** **وهو موجب لاختبار الكتاليز ولا يحتاج في نموه إلي بيوتين.**
- ***Azospirillum lipoferum*** **وهو سالب لاختبار الكتاليز ويحتاج في نموه إلي البيوتين وهذا النوع هو الأكثر انتشاراً في الأراضى المصرية.**



شكل (٢-٤): بكتريا *Azospirillum brasilense*

وينتشر هذا الميكروب في أراضى الحشائش والمنزرعة حبوب. ويعتبر هذا الميكروب من أهم الميكروبات المثبتة نظرا لأنه يستطيع تثبيت النيتروجين في الحالة الحرة وأيضا بالتعاون مع جذور بعض النباتات وأكثرها النباتات النجيلية، حيث يدخل الميكروب إلى داخل الجذر بمساعدة إنزيمات البكتينيز التي يفرزها ثم يستقر داخل الصفيحة الوسطى أو على سطوح تلك الجذور ولذلك فهى نصف تكافلية ويطلق

عليها Semi-symbiotic N_2-fixer. ومما هو جدير بالذكر أن هذا الميكروب يثبت الأزوت بكفاءة عالية حيث يستطيع تثبيت كميات من الأزوت بمعدلات تقترب من الكمية التى تثبت بواسطة الأزوتوباكتر حيث تبلغ ٣٠ كجم أزوت/ فدان/ سنة، وميكروبات الأزوسبيريلام تستخدم حالياً بكثرة كمخصبات حيوية لمعظم محاصيل الحبوب مثل الذرة والقمح والشعير والذرة الرفيعة وقصب السكر والأرز، ولقد تم عزل نوع أخر للأزوسبيريلام من مناطق الأمازون بأمريكا الجنوبية بواسطة Dobereiner (1983) أسمته *Azospirillum amazonenses* حيث يوجد بكثرة في أراضى النجيليات والنخيل، وهذا النوع يختلف كثيراً عن الأنواع السابقة حيث أنه حساس للقلوية والأكسجين.

ويجب أن تشير إلي أن النوع *Azos. brasilense* يستطيع أن يتعايش بدرجة أكبر مع النباتات ذات نظام التمثيل الضوئى C_3 أى النباتات ثلاثية الكربون ومن هذه النباتات الأرز، القمح، الشعير والراى، أما النوع *Azos. lipoferum* يستطيع أن يتعايش بدرجة أكبر مع النباتات ذات نظام التمثيل الضوئى C_4 أى النباتات رباعية الكربون مثل الذرة والذرة السكرية ونباتات المراعي، وتشير نتائج الأبحاث الحديثة أنه يمكن إضافة مثل هذه الميكروبات كمخصبات حيوية لمعظم المحاصيل خاصة محاصيل الحبوب (والخضر حيث تستطيع أن تثبت كميات لا باس بها من الأزوت بالإضافة إلي قدرة هذه الميكروبات علي إفراز الكثير من منشطات النمو مثل الإندولات والجبريللينات والسيتوكينينات.

السيانوبكتريا (البكتريا الخضراء المزرقة) Cyanobacteria

لا تنتشر السيانوبكتريا في الأراضى ذات الصرف الجيد بينما تتواجد بكثافة عددية كبيرة في الأراضى الغدقة، وتتميز العديد من هذه الميكروبات المعزولة من التربة بنموها في بيئات سائلة خالية من مركبات النيتروجين مؤدية بذلك إلي زيادة محتوي النيتروجين الكلي لهذه البيئات، ومع ذلك فليست كل السيانوبكتريا قادرة علي استخدام النيتروجين الجوي، وتؤدي زيادة الإضاءة إلي تشجيع عملية تثبيت النيتروجين الجوي التي تقوم بها الأنواع النشطة من السيانوبكتريا بينما تعمل الإضاءة الشديدة علي تثبيط هذه العملية.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Cyanobacteria

Orders

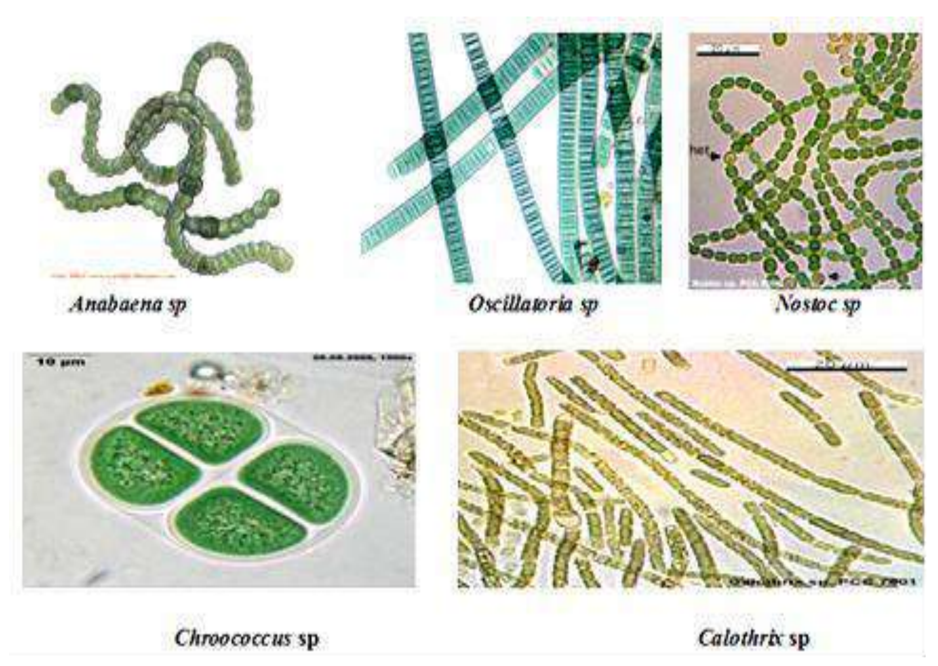
Chroococcales Chroococcidiopsidales

Gloeobacterales Nostocales

Oscillatoriales Pleurocapsales

Spirulinales Synechococcales

وعموماً تقوم هذه الميكروبات بتثبيت النيتروجين الجوي ببطء حيث وجد أن الزيادة في محتوى النيتروجين الكلي في بيئاتها من ٣٠ إلي ١١٥ ميكروجرام نيتروجين لكل سم^{٣} يحتاج إلي ١,٥ إلي ٢ شهر لمعظم العزلات التابعة لأجناس *Anabaenopsis, Aulostria, Tolypothrix, Nostoc, Cylindrospermum, Anabaena, Calothrix* and *Aulosira* . لهذا فإن عملية تثبيت النيتروجين الجوي التي تقوم بها هذه الميكروبات تعد أقل سرعة منها في حالة الأزوتوباكتر والكلوستريديا، ويتمكن العديد من هذه الميكروبات في مزارعها النقية من النمو البطئ في الظلام بشرط توفر السكر اللازم كمصدر للكربون والطاقة ويستتبع ذلك زيادة ضئيلة في محتوى بيئاتها من النيتروجين الكلي، وقد لا يكون لتثبيت النيتروجين الجوي في الأجواء المظلمة أى أهمية اقتصادية في حين نجد أن توفر الإضاءة الكافية لكل من السيانوبكتريا يشجع نمو هذه الميكروبات بدرجة أكبر من الميكروبات غير الذاتية التغذية المثبتة للنيتروجين الجوي وذلك لمقدرة الأولي علي النمو دون اعتماد علي مصادر المواد الكربوهيدراتية المحدودة في التربة.



شكل (٢-٥): أشكال مختلفة من الطحالب الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا)

ويستطيع طحلب ***Nostoc*** أن يثبت ١٠ ملليجرام نيتروجين في ٤٥ يوم ١٨ ملليجرام في ٨٥ يوم لكل ١٠٠سم^{٣} من البيئة، وفي موسم الأرز تثبت هذه السيانوبكتريا من ١٠-٢٥ كجم أزوت / فدان، ولقد وجد أن حوالي ٣٠٪ من الأزوت المثبت بالطحالب ينساب إلي الوسط الخارجي في صورة أحماض أمينية أهمها الجلوتاميك والأسبارتيك ثم الألانين كما وقد ينساب النيتروجين المثبت في صورة أمونيا ، وعندما تزيد كمية النيتروجين المثبتة بالسيانوبكتريا أو في البيئة عن حاجته فإن الطحلب يخزن هذا النيتروجين الزائد في مركبين أساسيين:

١- صبغة الـ **Phycocyanin** التي تعمل مع صبغات النظام الضوئي رقم ٢ (وهو الخاص بتحليل الماء وانطلاق الأكسجين) كمخزن للنيتروجين و تمد السيانوبكتريا به في حالة نقصه.

٢- الحبيبات البنائية **Structural granules** وهي غالباً بلمرات من حمض الأسبارتيك والأرجنين التي قد تشغل في بعض الأحيان من ١٠-٣٠٪ من وزن الخلية.

وتوجد السيانوبكتريا في المياه العذبة والمالحة وينتشر الجنسان ***Nostoc & Anabaena*** علي نطاق واسع في الأوساط المائية.

عملية تثبيت النيتروجين الجوي تتم في الخلايا الخضرية في السيانوبكتريا تحت شروط لا هوائية وذلك في السيانوبكتريا التي لا تكون هيتيروسيست، بينما العملية تتم تحت الظروف الهوائية في السيانوبكتريا المكونة للهيتيروسيست حيث نجد أن هذه الخلايا هي مكان التثبيت بينما تقوم الخلايا الخضرية بعملية تثبيت الكربون وإخراج الأكسجين.

تمتاز خلايا الهيتيروسيست عن الخلايا الخضرية في أنها خالية من صبغة الفيكوسيانين ومن حبيبات Polyphosphate ومن النظام الضوئي رقم ٢ ، غير أنها تحتوي علي النظام الضوئي رقم ١المسئول عن تثبيت ثانى أكسيد الكربون في حالة نشطة، ولها منافذ تربطها بالخلية الخضرية ونسبة الكربون إلي النيتروجين بها حوالي ٨ : ١وخلايا الهيتيروسيست النشطة تكون خالية من الصبغات الضوئية.

عمر الجيل في السيانوبكتريا أطول من مثيله في البكتريا حيث يبلغ ٢٠-٢٥ ساعة في حالة *Nostoc & Anabaena* ، ولتنمية السيانوبكتريا الخيطية المكونة للهيتيروسيست تستعمل طريقة المزرعة الثابتة لأن استعمال طريقة المزرعة المهتزة بما فيها من رج وتقليب يترتب عليه كسر خيوط السيانوبكتريا وتقليل كفاءته في التثبيت، وبالإضافة إلي عوامل الإضاءة والتهوية وتوفر عناصر التغذية فإن العوامل البيئية المؤثرة علي كفاءة السيانوبكتريا في النمو والتثبيت ما يلي:

١- الجفاف Desiccation : يعتبر الجفاف من العوامل الهامة المحددة لمعدل النمو والتثبيت ويزيد المعدل بزيادة رطوبة الوسط.

٢- الحرارة Temperature : يتأثر معدل التثبيت بدرجة الحرارة، ويحدث أعلي معدل تثبيت لأعلي الأنواع ما بين درجة ٢٥-٥٠°م ويبدو أنه لا يحدث تثبيت بعد درجة حرارة ٦٠°م.

السيانوبكتريا والمعيشة التكافلية

تستطيع بعض أنواع السيانوبكتريا أن تثبت النيتروجين الجوي وهي في معيشة تعاونية مع نباتات أخري متعددة تتراوح ما بين الفطريات إلي مغطاة البذور، ولكل عائل نوع خاص به وذلك كما يتضح من الجدول التالي:

Cyanophyta: Eucaryotic plant symbiosis.

Symbiotic plant	Genera	Endophyte
Fungi (lichens) الأشنات	*Collema, Peltigera*	*Nostoc*
Bryophyta الحزازيات	*Anthoceros, Blasia*	*Nostoc*
Pteridophyta (Ferns) السراخس	*Azolla*	*Anabaena*
Gymnosperm(Cycads) معراة البذور	*Cycas, Macrozamia*	*Nostoc, Anabena*
Angiosperm مغطاة البذور	*Gunnera*	*Nostoc*

أهمية السيانوبكتريا

أهمية السيانوبكتريا في الأراضي في تثبيت النيتروجين ما زالت موضع جدال، إذ أنه من المعروف أنها تثبت أزوت الهواء الجوي عند تعرضها لأشعة الشمس وعليه فيتحتم أن توجد علي سطح التربة، ولكن العمليات الزراعية كالحرث والعزيق تدفنها بالأرض، وفي هذه الحالة تصبح الخلايا غير قادرة علي تثبيت الأزوت، ولكن السيانوبكتريا لها أهمية كبيرة في الأراضي المزروعة بالأرز والنباتات المائية حيث تغمر الأراضي بالمياه لمدد طويلة، وفي هذا المجال تعتبر السيانوبكتريا الخيطية

وخاصة المكونة للهيتيروسيست من أنسب الكائنات المجهرية للتسميد الأزوتي في هذا الوسط حيث لها القدرة علي التثبيت في وجود الماء مستخدمة الطاقة الشمسية وهذه هي احتياجاتها الأساسية للتثبيت الأزوتي بالإضافة إلي الفوسفور.

ويحتاج الأرز إلي ٤٠ وحدة أزوت للفدان وقد وجد أن استخدام مائة جرام سيانوبكتريا جافة للفدان وقت شتل الأرز توفر من ثلث إلي نصف كمية الأزوت اللازم أي من ١٥–٢٠ وحدة أزوت للفدان.

ويتم حالياً في محطة البحوث الزراعية بسخا إنشاء صوب لإنتاج سيانوبكتريا ذات كفاءة عالية في تثبيت الأزوت لاستخدامها كلقاح للأرض المنزرعة أرزاً مما يوفر ٧٥٪ من احتياجات الأرز علي الأقل من السماد الأزوتي المعدني، وتعطي الصوبة المقامة علي مساحة فدان ما يكفي لتلقيح ٥٠ ألف فدان أرز سنوياً بالسيانوبكتريا.

وبالإضافة إلي قدرة السيانوبكتريا علي تثبيت أزوت الهواء الجوي، فأنها تفرز مجموعة من العوامل المساعدة علي النمو مثل IAA وفيتامينات مثل B_{12} وحمض الأسكوربيك حيث تؤدي عملية التلقيح إلي زيادة إنتاج المحصول المنزرع.

وتستخدم السيانوبكتريا في الأراضي المزروعة أرز في بعض البلاد كما في الهند لمعالجة الأرض القلوية التي يصل فيها الـ pH إلي ٩,٥ أو أكثر حيث تستعمل السيانوبكتريا أيون الكربونات كمصدر كربوني لبناء أجسامها.

كما تجري الأن تجارب لإنتاج سلالات من السيانوبكتريا المثبتة للأزوت تكون خالية من إنزيم Glutamine synthetase فلا يتحول الأزوت المثبت بأجسامها في صورة أمونيا إلي أحماض أمينية ولكن تنساب تلك الأمونيا خارج الخلايا إلي البيئة حيث يمكن استخدامها في إنتاج المخصبات الحيوية الأزوتية وبذلك يستفاد من الطاقة الشمسية بطريقة بيولوجية في إنتاج الأسمدة الحيوية الأزوتية.

البكتريا المثبتة لأزوت الهواء الجوى التكافلية

Symbiotic nitrogen fixers

يقوم عدد كبير من البكتريا والأكتينوميسيتات وبعض الطحالب الخضراء المزرقة بتثبيت الأزوت الجوي بالاشتراك مع بعض نباتات معراة ومغطاة البذور، كما يلي

١-التكافل بين الريزوبيا والنباتات البقولية

Rhizobium-legume symbiosis

٢--التكافل بين الريزوبيا وغير البقوليات

Rhizobium-non legume symbiosis

٣-التكافل بين الأكتينوميسيتات والنباتات غير البقولية

Actinomycetes -non legume symbiosis كما في الكازوارينا.

٤-التكافل بين الطحالب الخضراء المزرقة ومعراة البذور

Blue green algae-gymnosperms symbiosis كما في السيكاس.

الريزوبيا والنباتات البقولية Rhizobia and leguminous plants

تتم عملية تثبيت النيتروجين بواسطة البكتريا العقدية التابعة لجنس *Rhizobium & Bradyrhizobium* داخل العقد الجذرية، حيث تعيش هذه الميكروبات مع النباتات البقولية معيشة تكافلية (تبادل المنفعة)، فالنبات يمد الميكروب بما يحتاجه من المواد العضوية وغير العضوية اللازمة له، بينما تمد الميكروبات النبات بالمواد النيتروجينية من خلال عملية تثبت نيتروجين الهواء الجوي في النبات، والريزوبيا ميكروب عصوى قصير غير متجرثم سالب لجرام، تنمو على بيئة المانيتول ومستخلص الخميرة، وتتميز بأنها في المزارع الحديثة يكون شكلها عصوى وأحيانا كروى بينما في العقد الجذرية أثناء طور التثبيت وهو طور البكتيرويد تأخذ أشكال غير منتظمة (T,Y,V,X) ولا يظهر ذلك على البيئات الصناعية. وتتميز أثناء نموها في العقد بإفراز بعض منشطات النمو مثل مشتقات الإندولات والسيتوكينينات والجبريللينات.

شكل (٢-٦): جذر نبات بقولي وعليه عقد بكتيرية

التقسيم الحديث للريزوبيا

طبقا لتقسيم برجي (٢٠٠٥) **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology** فقد وضعت الريزوبيا في المجلد الثانى

Phylum: Proteobacteria

Class: Alphaproteobacteria

Order: Rhizobiales

Family: Rhizobiaceae

- ***Rhizobium*** -***Allorhizobium***
- ***Sinorhizobium*** -***Agrobacterium***

Family: Bradyrhizobiaceae

- ***Bradyrhizobium***

Family: Phyllobacteriaceae

- ***Phyllobacterium*** -***Mesorhizobium***

Family: Hyphomicrobiaceae

- ***Azorhizobium***

وتمتاز أفراد هذه العائلات بأنها:

عصويات، غير متجرثمة، متحركة، سالبة لجرام، هوائية، وتستعمل الكثير من الكربوهيدرات مع إفراز مواد لزجة خارج الخلية أثناء نموها علي الكربوهيدرات، تسبب

نموات غير عادية في خلايا قشرة العائل النباتي، وتكون عقدًا علي جذور النبات العائل أو علي الأوراق.

وتقسم ميكروبات هذه العائلات إلي الأجناس التالية:

١-ميكروبات تكون عقدًا علي جذور البقوليات ، تثبيت الأزوت الجوي تكافلياً في العقد الجذرية ، لا تفرز مادة 3-ketolactose ومنها.

أ-جنس ***Rhizobium*** : وهي بكتريا سريعة النمو علي بيئة أجار مانيتول مستخلص الخميرة، تكون العقد في جذور بقوليات المناطق المعتدلة، عادة تفرز أحماض في البيئة.

ب-جنس ***Bradyrhizobium*** : وهي بكتريا بطيئة النمو علي بيئة أجار مانيتول مستخلص الخميرة، تكون العقد في جذور بقوليات المناطق الحارة وبعض بقوليات المناطق المعتدلة، عادة تفرز مواد بالبيئة لها تأثير قلوي.

ج-جنس **Agrobacterium** : لا تكون عقدًا علي جذور البقوليات، ولكنها تسبب تكون نموات غير عادية في كثير من النباتات، لا تثبت الأزوت الجوي.

د-جنس ***Phyllobacterium*** : تكون عقدًا علي أوراق بعض النباتات التابعة لعائلة **Myrsinaceae & Rubiaceae** ولكن لم يثبت انها تثبت أزوت الهواء الجوى إلى الأن، وأهم أجناس الريزوبيا المثبتة للنيتروجين الجوى:

Rhizobium, Bradyrhizobium, Mesorhizobium,

Allorhizobium, Sinorhizobium, Azorhizobium,

ونظراً لأن الريزوبيا مع ميكروبات أخرى عديدة تشبهها في الصفات ، فإنه من الصعب عدها في التربة أو بالزراعة علي البيئات مباشرة، لذلك قد يستخدم فى عد الريزوبيا طريقة جداول العد التقريبية (MPN) في بيئات سائلة بحيث تلقح أنابيب البيئات بالتخفيفات المناسبة ثم يوضع فيها بذور النبات البقولى، وبعد الإنبات بعدة أسابيع يفحص النبات لوجود العقد علي الجذور ثم تقدر الأعداد.

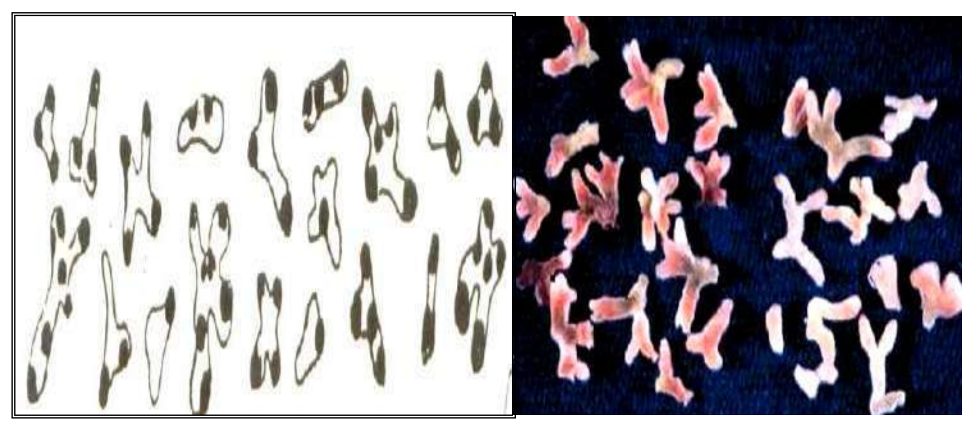
ويمكن تقسيم البكتريا المعزولة علي أساس نموها علي بيئة مستخلص الخميرة والمانيتول إلي:

١ – جنس *Rhizobium*

ميكروبات سريعة النمو Fast growing (مثل بكتريا مجموعة البرسيم الحجازى) ومتوسط عمر الجيل بها حوالى ٤ ساعات، ويصل أقصى نمو بعد ٤٠–٧٠ ساعة وأفراد هذه المجموعة تزيد من حموضة البيئة بعد نموها.

٢ – جنس *Bradyrhizobium*

ميكروبات بطيئة النمو Slow growing مثل بكتريا مجموعة اللوبيا (Cowpea Bradyrhizobia) ومتوسط عمر الجيل بها حوالى ١٠ ساعات من (٦–١٢ ساعة) ، ويصل أقصى نمو بعد ١٠٠–١٩٠ ساعة، وهي تزيد من قلوية البيئة بعد النمو بها، وتمتاز أفرادها بأن فلاجلاتها طرفية.



شكل (٢–٧): *Rhizobium* sp.

والبكتريا العقدية تتشابه عادة مع جنس الأجروباكتريوم *Agrobacterium* في كثير من الصفات، إلا أنهما يختلفان قليلا في بعض الصفات المزرعية، فمثلاً تحتاج البكتريا العقدية إلي فيتامينات وعوامل نمو في البيئة بينما تستطيع الأجروباكتريوم النمو في بيئة بسيطة تحتوى علي أمونيا كمصدر وحيد للنيتروجين. إلا أن الطريقة الأساسية في تميزهما عن بعضهما هي قدرة جنس *Rhizobium & Bradyrhizobium* علي تكوين العقد الجذرية علي النباتات البقولية وعدم قدرة جنس *Agrobacterium* علي ذلك وكذلك اختبارات إنزيم النيتروجينيز.

التخصص في البكتريا العقدية

Specification of nodulating bacteria

البكتريا المسببة للعقد الجذرية للنباتات البقولية تشتمل علي أنواعاً عديدة، وتختلف الأنواع حسب نوع النبات العائل الذي يصيبه، فلكل نبات بقولى أو مجموعة من النباتات البقولية نوع يكون العقد عليه أما باقى الأنواع فإنها غير قادرة علي غزو هذا النبات، أو قد يغزوه ولكنها تكون عقداً ضعيفة غير قادرة علي غزو هذا النبات، أو قد يغزوه ولكنها تكون عقدًا ضعيفة غير قادرة علي تثبيت النيتروجين، وتسمي مجموعة النباتات البقولية التي يغزوها نوع واحد من البكتريا العقدية باسم مجموعة تبادلية التلقيح، فمثلا هناك مجموعة البسلة تضم البسلة والفول العادى والعدس، والنوع المكون للعقد البكتيرية علي هذه المجموعة هو *Rhizobium leguminosarum* ، وبالمثل هناك مجموعة البرسيم الحجازي ويغزوها ميكروب *Rhizobium meliloti* ومجموعة البرسيم العادى ويغزوها *Rh. trifolii*، حيث قسمت النباتات البقولية إلي سبع مجموعات وبالتالى قسمت البكتريا العقدية إلي سبع أنواع. وبالرغم من أن النوع الواحد من البكتريا العقدية يغزو جميع أنواع النباتات البقولية التابعة لمجموعته التبادلية، إلا أن هناك سلالات بكتيرية تكون أكفأ في تكوين العقد وتثبيت النيتروجين علي نبات معين في داخل المجموعة من النباتات الأخرى، وحتى النوع الواحد من النباتات البقولية قد يغزوه عدة سلالات تختلف في كفاءتها في تثبيت النيتروجين فبعضها ذو كفاءة عالية وبعضها متوسط.

المجموعات النباتية وأنواع البكتريا المتخصصة في إصابتها

اسم المجموعة		نوع البكتريا	النباتات التي تضمها المجموعة
أ) سريعة النمو مجموعة البرسيم الحجازى	Alfalfa group	*Rh. meliloti*	–البرسيم الحجازى ، الحلبة ، النفل ، الحندقوق

مجموعة البرسيم	Clover group	*Rh. trifolii*	-البرسيم المصري، البرسيم الأحمر ، البرسيم القرمزي
مجموعة البسلة	Pea group	*Rh. leguminosarum*	-البسلة ، بسلة الزهور ، العدس ، الفول العادي
مجموعة الفاصوليا	Bean group	*Rh. phaseoli*	- الفاصوليا
ب)بطيئة لنمو			
مجموعة الترمس	Lupine group	*Br. lupine*	-الترمس
مجموعة فول الصويا	Soybean group	*Br. japonicum*	-فول الصويا
مجموعة اللوبيا	Cowpea group	*Bradyrhizobium sp*	-اللوبيا ، فول السوداني ، فاصلوليا الليما ، اللبلاب

مراحل تكوين العقدة البكتيرية Stages of nodule formation

تبدأ عملية تكوين العقدة البكتيرية بعد إنبات البذرة مباشرة، حيث تفرز جذور النبات إفرازات تشجع نمو الميكروبات حوله وتشجع البكتريا العقدية الموجودة في التربة حول الجذور وتتكاثر حوله، فإذا كانت من النوع المتخصص لهذا النبات فإنها تلتصق بالجذور، ولقد أثبتت الدراسات أن البكتريا العقدية يوجد علي سطحها نوع من السكريات المعقدة متخصصة لنوع النبات البقولى الذي تغزوه. فإذا كانت البكتريا

العقدية من النوع المتخصص للنبات المزروع فإنها تلتصق به بواسطة السكريات المعقدة المتخصصة، أما إذا لم يكن من النوع المتخصص للمجموعة النباتية التي يتبعها النبات المزروع فإن الالتصاق لا يتم أو يكون ضعيفاً وبعد الالتصاق تبدأ عملية الغزو، ويوجد عدة أراء عديدة تفسر الأسباب التي تساعد الميكروب المتخصص علي غزو جذور النبات العائل ومن هذه الأراء:

١- يساعد على انحناء الشعيرة الجذرية وغزو طرفها بالبكتريا المتخصصة ما تفرزه بذور النبات العائل أثناء نموها في حالات كثيرة من مواد تسمي **Lectins** (ليكتينات)، وهي عبارة عن مواد بروتينية ذات قابلية متخصصة للارتباط بالسكريات المعقدة الموجودة علي سطوح البكتريا العقدية، وفي حالة البكتريا العقدية فإنه يحدث تجاذب بين السكريات التي علي سطحها وبين الليكتينات المنتشرة علي سطوح جذور النبات البقولى (أو الشعيرة الجذرية)، وبذلك تلتصق البكتريا بجذر عائلها المتخصص له دون غيره. وعلي هذا فإن ليكتين البرسيم العادى والمسمى **Trifoliin** متخصص للاتحاد مع الريزوبيا ***Rh.trifolii*** ولصقها بجذور البرسيم، ويهمنا أن نوضح أن السكريات التي تفرزها الريزوبيا متعددة منها سكريات العلبة **Capsular polysaccharides** وأهم مكوناتها الجلوكوز والجلاكتوز والفراكتوز والمانوز وأحماض الجلكورونيك والجلاكتورونيك، ومنها سكريات ليبيدية تحتوى علي سكريات وأحماض نووية متحدة مع ليبيدات وتتميز باحتوائها علي **Uronic acid, Rhamnose, Methylated 6-deoxyhexose, Methylated hexose amine, Ethylated heptose** ، بالإضافة إلي ما تفرزه خلية الريزوبيا من وحدات ذات أوزان جزيئية صغيرة من الجلوكان.

٢- ومما يساعد أيضا علي غزو الميكروب المتخصص للعائل، ما تفرزه جذور العائل من إنزيم **Polygalacturonase**، ويفرز هذا الإنزيم في رأى بعض الباحثين نتيجة لحث البكتريا المتخصصة المهاجمة بما تحويه من سكريات معقدة في جدارها الخارجي.

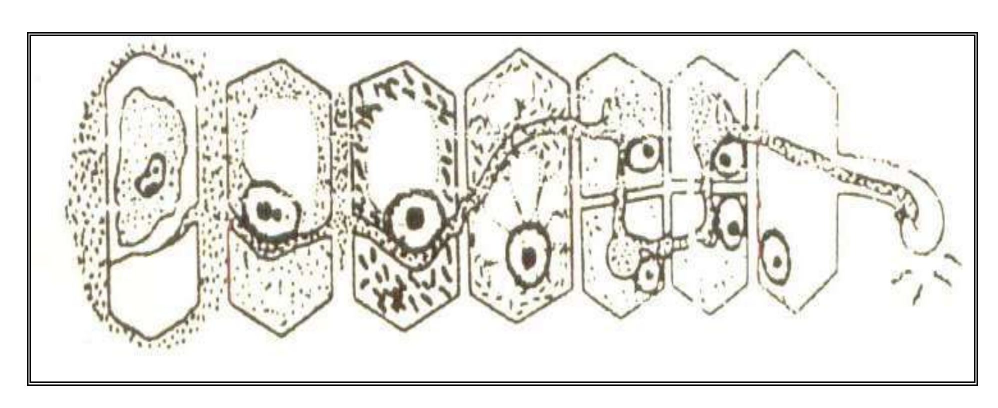
٣- ويساعد أيضا في عملية الغزو، ما تفرزه القمة النامية لطرف الشعيرة الجذرية عند مكان الإصابة من مادة سكرية تسمي كالوز **Callose** وهي **β-1,3 glucan**

هذه المادة تفرزها جذور النباتات الحديثة النمو بتأثير البكتريا العقدية المتخصصة بما تفرزه من مادة الإندول أسيتيك أسيد، وهذه المادة (الكالوز) تختفي في الجذور المسنة، ويمكن تقسيم الأطوار التي توجد بها البكتريا العقدية في النبات إلي ثلاثة كالأتي:

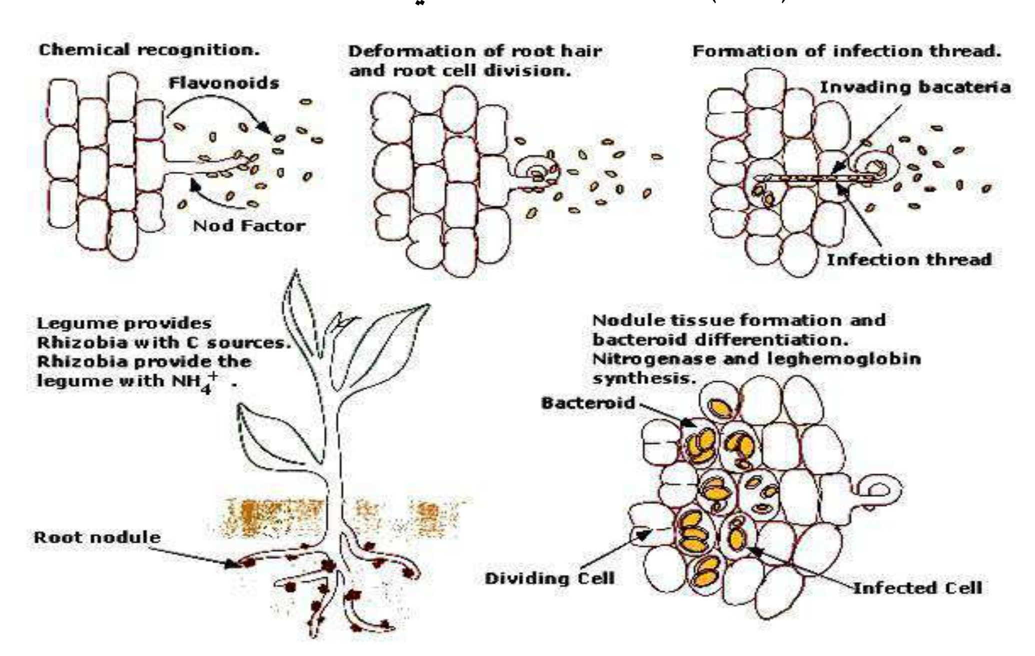
الطور الأول Controlled parasite

غزو الميكروب للجذور: يبدأ تكوين العقدة مع تكوين الأوراق الأولى للنبات، وقد دلت الأبحاث علي أنه في هذا الوقت تفرز جذور النبات مواد تعمل علي تكاثر البكتريا المحيطة بها، وبذلك يتكون بالقرب من الشعيرة الجذرية مجموعة كبيرة من بكتريا العقد الجذرية، حيث تفرز بدورها مادة منشطة للنمو (مثل أندول حمض الخليك الذي تمثله البكتريا بالأكسدة من مادة التربتوفان المفرزة من الجذور)، وهذه تسبب نمو الشعيرة الجذرية والتوائها، فتغزوا هذه الميكروبات طرف الشعيرات الجذرية من منطقة الانحناء لأنها أضعف نقطة في الشعيرة.

ولقد وجد أنه إذا كان الميكروب هو من نفس النوع الذي يصيب النبات فإنه يحدث هذا الانحناء ويكون العقدة، أما إذا كان من نوع أخر فإنه يحدث الانحناء فقط ولا يكون العقدة، بمعني أن الميكروب المختص بإصابة جذور الفول مثلا يحدث الانحناء والعقدة في نبات الفول فقط، ولكنه يحدث الانحناء فقط في نبات البرسيم، ثم يبدأ في تكوين (خيط العدوى) Infection thread بعد الإصابة، وهو مكون من البكتريا محاطة بأنبوبة مكونة من السليولوز وهيميسليولوز وبكتين وهذه الأنبوبة يكونها النبات المصاب. يستمر خيط العدوى في نموه بمتوسط سرعة حوالى ٧ ميكرومتر/ساعة، وهو معدل يعادل سرعة نمو الشعيرة الجذرية نفسها. ويختلف خيط العدوي في السمك باختلاف النبات العائل، ولكنه يزداد دقة كلما كان الجذر رفيعا، ويستمر في النمو مستقيماً وينحني فقط ليتبع انحناء جدار الشعيرة الجذرية. وفي المعتاد يتكون خيط عدوى واحد داخل الشعيرة الجذرية، ولكن قد يتكون أحياناً خيطين ونادرًا ما يتكون ثلاثة خيوط.



شكل (٢-٨): انتشار خيط العدوى في خلايا الجذر



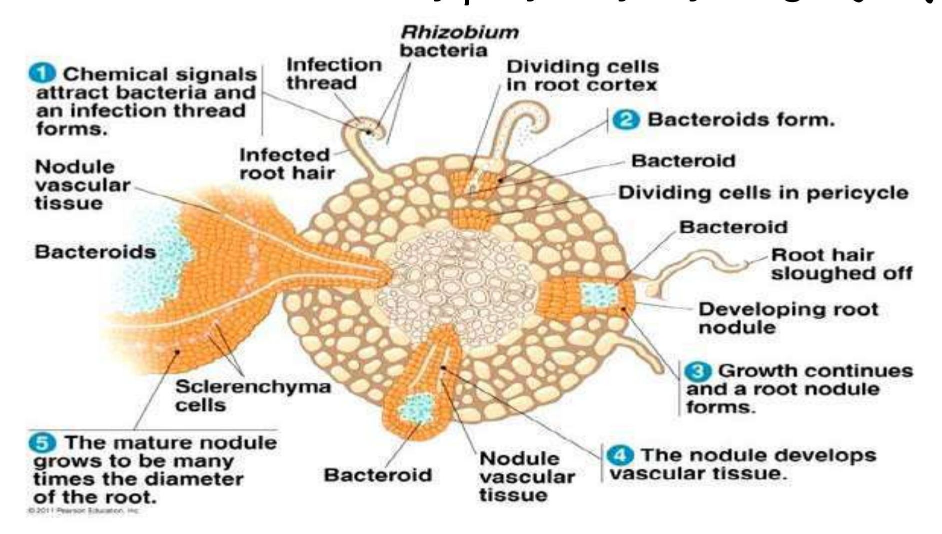
شكل (٢-٩): مراحل غزو الريزوبيا لجذر النبات

يستمر خيط العدوي في النمو في الشعيرة الجذرية حتى يصل إلي خلايا القشرة للجذر فيخترقها، ثم يتفرع خيط العدوي ويغزو خلايا أخرى ويختفي الخيط وتتجمع خلايا البكتريا حول أنوية خلايا قشرة الجذر، تنشط الخلايا المصابة وتنقسم حاملة خلايا البكتريا الجديدة، وتتكون العقدة من الانقسام الغزير لخلايا النبات ومن تضخم هذه الخلايا أيضاً . كما أن خلايا النبات المجاورة للخلايا المصابة ينتابها كبر في الحجم ونشاط في الانقسام أيضاً، ويعلل انقسام الخلايا المجاورة المذكورة إلي أن خلايا البكتريا أيضا تفرز هرمون **Heteroauxin** ينتشر إليها فيسبب هذا النشاط ويؤيد

ذلك أن العقدة وجدت غنية بهذا الهرمون، ويلاحظ بأنه إذا ما دخلت إحدى سلالات الريزوبيا إلي داخل النبات فأنها تمنع دخول السلالات الأخرى.

وتتكون العقدة عادة من خلايا القشرة بالجذر كما في معظم النباتات مثل البسلة والبرسيم الحجازى والفول، غير أنه في بعض النباتات الأخرى مثل الفول السوداني يصل خيط العدوي مخترقا القشرة إلي البريسيكل والذي تتكون العقدة من انقسام خلاياه ويتم تكوين العقدة علي الجذر في مدة لا تقل عن ١٥ يوماً من بدء الإصابة، وعندما تتكون العقدة تظهر الحزم الوعائية في المحيط الخارجي للعقدة التي تتصل بالحزم الوعائية الأصلية للجذر، وخلال هذه الأوعية تنتقل المواد العضوية وغير العضوية إلي العقدة، كذا تنتقل منها المواد التالفة الناتجة من تمثيل الميكروبات للأغذية وأيضاً ينتقل خلالها النيتروجين الممثل في العقدة إلي النبات.

ويلاحظ أن نصف العقدة يوجد به الميكروبات، أما النصف الأخر فخالي منها ويسمي النصف العقيم ، وشكل الميكروبات في العقدة الحديثة السن تقريبا عصوي، ولكن في العقدة الناضجة توجد البكتريا علي هيئة حروف مثل T, L, Y, X, V وغيرها، ويسمي هذا الطور **Bacteroids**، وعند صبغها وفحصها ميكروسكوبياً يشاهد أنها لا تصبغ بانتظام إذ يلاحظ وجود مناطق بيضاء خالية من الصبغة ولقد وجد أنها تتكون من **Poly β−hydroxybutyrate**.



شكل (٢-١٠): قطاع في جذر نبات بقولى ومراحل تكوين العقدة

وتتم عملية تثبيت النيتروجين الجوي في طور البكتيرويد لأن الخلايا البكتيرية في هذا الطور تحتوى علي الإنزيم المثبت للنيتروجين وهو إنزيم النيتروجينيز. وشكل وحجم العقدة يختلف باختلاف العائل والوسط وطريقة أدائها لوظيفتها، وعموماً فمن حيث الشكل فإنه يوجد شكلين للعقدة، الكروية كما في نبات Desmodium والمستطيلة كالموجودة في نبات البرسيم، وهي عقدة لها قمة نامية تستطيل طوليا وقد يحدث لها تفرعات جانبية.

الطور الثاني: تبادل المنفعة Symbiosis

وفيه تظهر المعيشة التكافلية أو معيشة "تبادل المنفعة" Symbiosis حيث تمد البكتريا النبات بالمواد النيتروجينية المثبتة، ويمد النباتات البكتريا بالمواد الكربوهيدراتية، وتمكث البكتريا داخل العقدة الجذرية في طور Bacteroids مدة سبع أسابيع تقريباً، وتحول الريزوبيا إلي طور البكتيرويد يكون مصحوبا بتكون مادة شبيهة بالهيموجلوبين بالعقدة وتسمي Leghaemoglobin، بينما تتحكم جينات الريزوبيا في تكوين النظام الخاص بتثبيت النيتروجين.

وإذا كانت الميكروبات غير متخصصة لنوع النبات، فإن العقدة تمكث ٧ – ١٠ أيام ولا يتكون في هذه الحالة الليجهيموجلوبين Leghemoglobin، وربما يشاهد نوعي العقد المذكورين علي النبات الواحد، وتسمي العقدة المتكونة من سلالة غير متخصصة أو غير فعالة بالعقدة الكاذبة وقد تتكون أحياناً عقد ضعيفة هزيلة ولكنها صادقة ويرجع ذلك إلي:

١ – كثرة النترات في التربة: حيث يتكون نموا خضريا كبيرا وتتجه كل الكربوهيدرات الناتجة عن التمثيل الكربوني للنبات إلي تكوين النمو الخضري بدلا من أن تصل للبكتريا لإمدادها بالطاقة اللازمة.

٢ – عدم وجود إضاءة كافية الأمر الذي يسبب قلة ورود الكربوهيدرات إلي العقد الجذرية نتيجة لضعف التمثيل الكربوني.

٣ – عدم وجود كمية كافية من المعادن النادرة الضرورية لعملية التثبيت مثل البورون والموليبدنيم.

الطور الثالث Uncontrolled parasite

بعد حوالى سبعة أسابيع من تكوين العقدة البكتيرية يتحول الميكروب من معيشة تبادل المنفعة إلي متطفل بعد أن تقل المواد الغذائية الواصلة إلي العقدة، فيفرز الميكروب إنزيم البكتينيز الذي يذيب الصفيحة الوسطى للخلايا البرانشيمية التي يسكن فيها وتتفجر العقدة بعد ذلك، ويخرج الميكروب إلي التربة الزراعية. وفي رأى أخر أنه في وقت الإزهار أو بعده بقليل تصل درجة تركيز هرمون الأوكسين Auxin إلي قمته، وعندئذ تتحلل العقدة ويصبح لونها أخضر أو بنى وتختفي البكتيرويدات Bacteroids ثم تنفصل بقايا العقدة بطبقة من الفلين بعدها تتآكل وتتحلل.

أهمية العقد الجذرية

تقوم بكتريا العقد الجذرية بتثبيت نيتروجين الهواء الجوي وهي مهمة للنباتات منذ بدأ حياتها إلي قرب حصادها. حيث أنها تمد النبات بما يحتاجه من نيتروجين فتعطي النباتات بالتالى غلة كبيرة بدون تسميد نيتروجيني، وكذا تمد التربة بكمية كبيرة من النيتروجين، والبكتريا لا يمكنها تثبيت النيتروجين بمفردها ولكن لابد من وجود النبات للقيام بعملية تثبيت الأزوت.

وبالنسبة لوجود هذه البكتريا في العقد علي جذور النباتات البقولية نجد أن هذه النباتات غنية بالنيتروجين، فمثلا نرى أن ١ طن دريس من البرسيم الحجازى يحتوى علي ١٣٠–١٥٥ كجم بروتين، بينما ١ طن من الحشائش أو تبن شعير أو قمح يحتوي علي ٥٠–٦٥ كجم بروتين حيث ويتضح مما تقدم أن البقوليات غنية بالبروتينات.

أيضاً مقدار ما يثبت من نيتروجين الهواء الجوي بالنسبة لهذه النباتات يختلف باختلاف نوع النبات، فنجد أن محاصيل المراعي مثل البرسيم الحجازي تثبت كمية من النيتروجين فوق كثيرا ما تثبته محاصيل البذور مثل الفول والبسلة وفول الصويا،أما مقدار ما تستفيده التربة من النيتروجين المثبت بواسطة النباتات البقولية فإنه يختلف باختلاف طريقة الحصاد، فإذا حرث المحصول في الأرض كسماد أخضر

فإن التربة تستفيد من كل النيتروجين المثبتة، أما إذا أكلته الحيوانات أو حول إلى سيلاج وأكلته الحيوانات فإن السماد الناتج من هذه الحيوانات لو أضيف كله للتربة فإن نسبة النيتروجين المثبت التي تصل إلى التربة تكون ٥٠٪ أو أكثر قليلا. أما إذا أزيل المحصول بعيدا عن التربة فإن مقدار ما يصل إلى التربة من النيتروجين المثبت يكون بمقدار ما يتبقى من محصول في التربة، وإذا كان المجموع الجذرى كبير ومكث في الأرض بعد الحصاد فإن ما يتبقى منه بعد الحصاد قد يساوى ثلث ما يحتويه النبات من النيتروجين المثبت.

التلقيح بالبكتريا العقدية Inoculation by noulating bacteria

قد تلقح التربة بالميكروبات النافعة، ولكي تتكاثر تلك الميكروبات الملقحة لابد من توافر العوامل المناسبة لنموها، وقد ثبت أن تلقيح التربة ببكتريا العقد الجذرية للنباتات البقولية هام جدا، خصوصاً في الأراضي المستصلحة حديثاً التي لم تزرع بعد بالنباتات البقولية، أو عند إدخال صنف جديد من النباتات البقولية التي لم يسبق زراعتها بعد مثل فول الصويا، أو حتي في الأراضي القديمة التي حدث تدهور في محتواها من البكتريا العقدية، وتوجد عدة طرق لتلقيح النباتات البقولية بواسطة البكتريا العقدية منها:

١) استعمال التربة Using of soil

وفي هذه الطريقة ينقل جزء من التربة من الطبقة السطحية (٥-٢٠سم) من حقل سبق زراعته بنجاح بنفس المحصول البقولي المراد زراعته، وتكفي كمية ٢٠٠كجم تربة لتلقيح فدان واحد تنثر هذه الكمية علي سطح الحقل وتخلط جيدا بالتربة قبل زراعة البذور، ولهذه الطريقة عدة عيوب منها عدم التأكد من معرفة ما إذا كانت التربة تحتوي علي العدد الكافي من البكتريا لتكوين العقد الجذرية، كما قد تحتوي تلك التربة علي بذور حشائش ضارة كالهالوك أو علي أفات وميكروبات مرضية لذلك فان هذه الطريقة قلما تستعمل الأن.

٢) استعمال المزارع البكتيرية Using of bacterial cultures

وفي هذه الطريقة تخلط البذور قبل زراعتها مباشرة بمزرعة نقية من بكتريا العقد الجذرية، وقد تكون هذه المزارع سائلة أو علي أجار أو علي مادة حاملة والنوع الأخير هو الشائع الاستعمال.

تبدأ الخطوات الأولي باختبار السلالة الفعالة من الريزوبيا للنبات العائل التي تتحمل ظروف التخزين ودرجات الحرارة العالية ثم تنمي البكتريا في مزرعة سائلة مناسبة وتترك لتنمو علي درجة ٢٥°م، بالنسبة للبيئة الغذائية فإن الريزوبيا ذات احتياجات غذائية عادية ويمكن أن تزرع في مزارع مهتزة أو في أوعية زجاجية بهواء معقم أو في مخمرات مناسبة علي أن تزود بفتحات لإضافة اللقاح وأخذ العينات، مصدر الكربون المناسب هو السكروز والمانيتول والجليسرول والأرابينوز، وإن كانت الريزوبيا بطيئة النمو لا تمثل السكروز، وتستعمل مستخلصات الخميرة عادة كمصدر للنيتروجين وعوامل النمو.

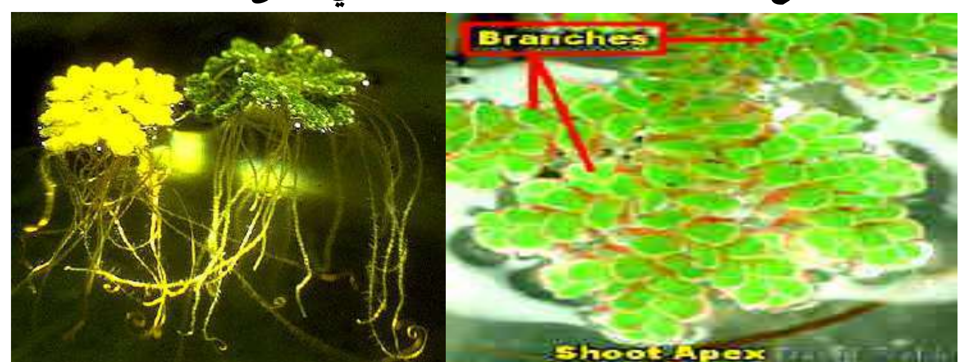
مزارع البكتريا علي مادة حاملة Bacterial cultures on carrier

تلقح البكتريا كما ذكرنا علي بيئة سائلة مناسبة مثل بيئة مستخلص التربة، ثم تترك لتنمو علي درجة ٢٥°م حتي إذا ما بلغ النمو أقصاه (٥ أيام) للسريعة النمو و(٧ أيام) للبطيئة النمو، يضاف السائل المحتوي علي البكتريا إلي مادة حاملة مثل السماد العضوي الصناعي Compost المعقم أو الدبال أو خليط من التربة والفحم ويخلط جيدا علي أن تكون درجة الرطوبة النهائية من ٤٠-٥٠٪ ثم يعبأ المخلوط في أكياس سيلوفان أو علب صفيح محكمة القفل ثم توزع بالأسواق.

الأزولا *Azolla*

الأزولا نوع من السرخسيات المائية Water ferns التي تمثل علاقة تعاون وثيقة بين النبات والسيانوبكتريا من جنس *Anabaena* من حيث تبادل نواتج التمثيل الغذائى من كربوهيدرات ونيتروجين، فكل من النبات والبكتريا يكونان وحدة واحدة، ويتم تثبيت النيتروجين خلال المعيشة التكافلية.

والأزولا تتبع Phylum pteridophyta, Order Salviniales, Family Azolaceae وهذه العائلة تكون جراثيم من نوع Heterospores free floating وجنس الأزولا *Azolla* يقسم حسب طريقة التكاثر إلي ستة أنواع هي *Azolla caroliniana, A. filiculoides, A. mexicana*، والأنواع الثلاث هذه أكثر انتشارا في أوروبا وأمريكا، أما الأنواع الثلاثة التالية *A. microphylla, A. pinnata, A. nilotica* فتكثر في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية وجنوب شرق أسيا، والنوع الأخير *A. nilotica* يوجد بكثرة في أعالى النيل والسودان.

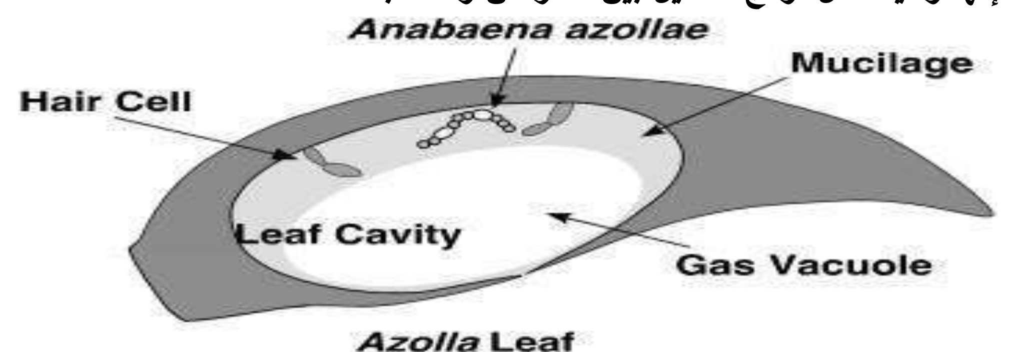


شكل (٢-١١) : أنواع مختلفة من الأزولا

ولقد بدأت في مصر منذ عام ١٩٧٧م دراسات علي تأثير التلقيح بنبات الأزولا علي نمو الأرز باستخدام سلالات تم استيرادها من الخارج ، ولقد أظهرت التجارب أن النوعين *A. filiculoides, A. caroliniana* أكثر الأنواع ملائمة مع ظروف الأراضى المصرية.

الأزولا نبات واسع الانتشار فهي توجد في البحيرات والترع وفي الحقول المغمورة بالمياه Paddy soils في كل جهات العالم خاصة في المناطق الاستوائية التي يتكاثر فيها بسرعة عائماً علي سطح البحيرات والمستنقعات، فهو من النباتات

المائية الطافية المكونة من ريزوم متفرع بالتبادل ذو أوراق مفصصة تفصيص ثنائى رأسى، وللسرخس جذور رقيقة تتدلى في الماء بطول ٢سم في الأنواع الصغيرة أو تصل بطول ١٠ سم في الأنواع الكبيرة، والأوراق مثلثة الشكل تعوم علي سطح الماء فردية أو في كتل معطية لسطح الماء لون أخضر محمر، لاحتوائها علي صبغة الكلوروفيل الخضراء وصبغة الأنثوسيانين الحمراء، وقطر الورقة يتراوح ما بين ١-٢سم في الأنواع الصغيرة مثل *A. pinnata* ويصل إلي ١٥ سم أو أكثر في الأنواع الكبيرة مثل *A. nilotica* ، وللورقة فصان فص علوي **Ventral lobe** رفيع ذو حجم كبير نسبياً يوجد علي سطح الماء ويستعمل للطفو وهو خال من الكلوروفيل تقريباً، وفص سفلي **Dorsal lobe** سميك هوائى يحتوي علي كلوروفيل وبين الفصين وأعلي الفص السفلي للورقة يوجد تجويف بيضاوي يتصل بالجو عن طريق ثغر، والسطح الداخلى للتجويف مغطي بطبقة لزجة وفيها يتواجد الطحلب الأخضر المزرق المثبت للنيتروجين الذي يعيش مع السرخس معيشة تكافلية **Symbiont** ، كما يوجد في تلك المنطقة أيضاً مع الطحلب أعداد قليلة من البكتريا مثل *Pseudomonas* وكذلك شعيرات ناقلة عديدة الخلايا وهذه الشعيرات كما يبدو فإنها وسيلة نقل نواتج التمثيل بين السرخس والطحلب.



شكل (٢-١٢): قطاع عرضى في ورقة الأزولا بداخلها الطحلب

تتكاثر الأزولا خضرياً أو جنسياً بتكوين جراثيم من اتحاد الجاميطات المذكرة والمؤنثة. ويمكن أن تتواجد تلك السرخسيات في المناطق الشمالية والقطبية، ولكن معدل تثبيتها للنيتروجين سيكون محدودا لأن الحرارة المنخفضة تحد من عملية التثبيت.

والظروف المناسبة لنمو الأزولا هي توفر بيئة مائية لا يقل عمق الماء بها عدة سنتيمترات، ودرجة حرارة بين ٢٠-٢٨°م ، وتوفر أملاح الفوسفات والبوتاسيوم والحديد وتركيز أيون الأيدروجين في الوسط من ٦-٧ ، وارتفاع الرقم الهيدروجيني عن ٧ كما في الأراضى المصرية يسبب صعوبة الأزولا في امتصاص العناصر الغذائية ويعالج ذلك بإضافة العناصر الغذائية المطلوبة في صورة سماد.

ويعتبر النوع ***Azolla pinnata*** من الأنواع التي تتحمل الحرارة العالية والفوسفور اللازم لها في الماء في حدود ٠,٠٣ جزء في المليون، وتموت السيانوبكتريا عند درجة حرارة اقل من ٥°م أو أكثر من ٤٥°م كما أن ارتفاع الرطوبة النسبية يحد من نموه.

ويمكن تنمية الأزولا بنجاح في مشاتل مائية بتوفير الظروف المناسبة واستعمالها كلقاح في الأراضى المزروعة أرز ، حيث يقوم المتعايش الداخلى **Endophyte symbiont** وهو ***Anabaena*** بتثبيت النيتروجين الذي تستفيد منه نباتات الأرز وبذلك يوفر من عمليات التسميد الأزوتي.

ومن العوامل المحددة لانتشار الأزولا نسبة الملوحة بالوسط النامية به فنمو الأزولا يقل تدريجيا كلما زادت نسبة الملوحة فإذا وصلت النسبة إلي ١,٣-١,٥٪ فإن النمو يقف وإذا ما زادت النسبة عن ذلك فإن النبات يموت وعلي ذلك فإن نسبة الملوحة يجب أن تؤخذ في الاعتبار إذا ما أريد تنمية الأزولا بنجاح.

ومن حيث التمثيل الضوئى فإن الأزولا تحتوي علي كلوروفيل **A ، B** والنظام الضوئى ١ , ٢ أما ***Anabaena*** المتعاون مع الأزولا فإنه يحتوي علي كلوروفيل **A** أو النظام الضوئى رقم ١ ، كما أنه يحتوي علي الصبغة الزرقاء المميزة لتلك السيانوبكتريا وهي صبغة الـ **Phycocyanin** أما عن صبغة الأنثوسيانين الحمراء الموجودة بالأزولا فإنها تمتص جزءا من الضوء الذي يتعرض له النبات، وتحوله إلي حرارة، وبذلك تحمي جهاز التمثيل الضوئى الموجود بالنبات من الضرر الناتج عند التعرض لتركيزات عالية من الضوء، و ***Anabaena azolla*** الذي يوجد داخل نبات الأزولا، هو سلالة متخصصة لهذا النبات وهو يتبع:

Domain: Bacteria

Class:Cyanophyceae

Phylum: Cyanobacteria

Order: Nostocales

Family: Nostocaceae

Genus : *Anabaena*

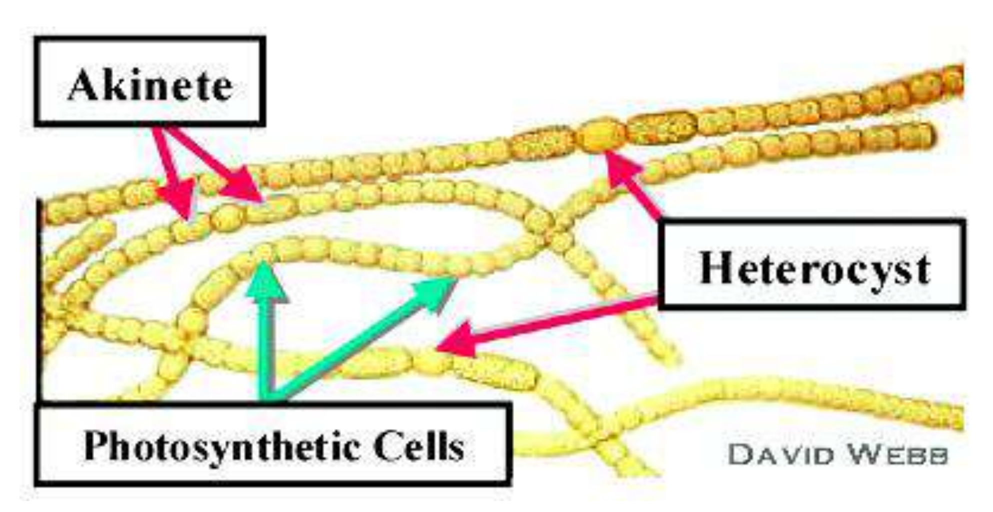
والطحلب يعيش داخل نبات الأزولا في شكل خيوط لزجة تملأ فجوات خاصة توجد علي سطح الفص السفلي لورقة الأزولا، وخيط الطحلب يتكون من خلايا برميلية الشكل وقطرها حوالى ٥ µm ويمكن تمييز ثلاث أنواع من الخلايا علي الطحلب:

١- خلايا خضرية وهي مراكز التمثيل الضوئى وتمثل حوالى ٦٠٪ من الخيط الطحلبى.

٢-خلايا Heterocyst وهي مراكز تثبيت الأزوت وتمثل حوالى ٣٠٪ من الخيط الطحلبى.

٣-خلايا Akinetes وهي خلايا ذات جدر سميكة تمثل مرحلة الجراثيم الساكنة بالطحلب Resting spores وتتكون من الخلايا الخضرية، وتمثل حوالى ١٠٪ من الخيط الطحلبي، ويتكاثر الطحلب بهذه الجراثيم أو بواسطة خيوط قصيرة تسمي Hormogonia تنبت من جراثيم Akinetes .

٤-ولأغراض الدراسة فإنه يمكن الحصول علي الطحلب خالياً من البكتريا المتعايشة معه باستعمال الأشعة فوق البنفسجية أو بالمعاملة الحرارية عند درجة ٤٧°م لمدة ١٠٠دقيقة، كما يمكن الحصول علي الأزولا الخالية من الطحلب Alga free azolla بتنمية الأزولا تحت ظروف بيئية قاسية من حيث البرودة، نقص الإضاءة، نقص العناصر الغذائية أو باستعمال المضادات الحيوية مثل البنسلين والإستربتوميسين.



شكل (٢-١٣): موضع خلايا الهيتيروسيست في خيط الطحلب

ويمتاز ***Anabaena*** وهو داخل النبات عن الخلايا المشابهة الموجودة في الحالة الحرة بارتفاع نسبة محتواه من خلايا **Heterocysts** والتي تصل نسبتها إلي حوالى ٣٠-٤٠٪ ، وبالتالى ارتفاع معدله في التثبيت النيتروجيني بشكل ملحوظ، وبذلك فإن ***Anabaena*** المتخصصة تعتبر ذو كفاءة عالية في عملية التثبيت الأزوتي التي وجد أنها تصل في المتوسط إلي ٢٥٠ كجم نيتروجين للفدان خلال ٤ شهور في موسم الأرز، وهي كمية تعادل نصف طن يوريا أو ١,٢٥ طن من سماد سلفات النشادر، وفوائد استعمال الأزولا في الأراضى المنزرعة أرزا معروفة منذ قرون طويلة في مناطق شرق وجنوب آسيا مثل اليابان والصين والفلبين وفيتنام كسماد أخضر وكمصدر أزوتي، حيث أنه بتلقيح الأراضى المغمورة بالماء المنزرعة أرز بالأزولا فإن تلك السرخسيات تنمو بسرعة مكونة طبقة نمو كثيفة علي سطح الماء وتثبت في أجسامها كميات كبيرة من النيتروجين، وعند تجفيف الأرز تجف تلك الطبقة من الأزولا وتموت وتتحلل وتغذى التربة بمخلفاتها الكربونية والأزوتية فتحسن من خواصها وتزيد من إنتاجيتها، ونظرا لأن نباتات الأزولا غنية في البروتين والمعادن، فإنه علاوة علي استخدامها كسماد عضوي بحقول الأرز، فإنها تستعمل أيضا كغذاء للحيوانات والطيور وفي عمل السماد العضوي الصناعي **Compost** بالمزارع.

الفصل الثالث

التحولات الميكروبية لمركبات الفوسفور فى التربة الزراعية

يوجد الفوسفور في التربة والنباتات والكائنات الحية الدقيقة في صورة عديد من المركبات العضوية وغير العضوية، والفوسفور عنصر غذائى هام يلي عنصر النيتروجين مباشرة من حيث احتياج كل من النباتات والكائنات الحية الدقيقة، ولهذا العنصر دورا فسيولوجياً رئيسياً في عدد من العمليات الهامة المتعلقة بتراكم الطاقة وانطلاقها خلال عمليات التمثيل الغذائى فى الخلايا الحية، يمكن أن يضاف هذا العنصر إلي التربة في صورة أسمدة كيميائية معدنية أو عضوية، كما يمكن لعنصر الفوسفور أن يختلط مع التربة والذى ينتج من أوراق الأشجار أو مخلفات النبات أو بقايا الحيوانات بعد تحليلها ، ولذلك فإن عنصر الفوسفور يمثل وضعا هاماً بالنسبة لنمو النباتات وأيضاً بالنسبة للعمليات الحيوية فى التربة.

تقوم الكائنات الحية الدقيقة بعدد من التحولات الحيوية لهذا العنصر كمايلى:

(أ) تعمل الكائنات الحية الدقيقة علي ذوبان مركبات الفوسفور المعدنية غير الذائبة من خلال عملية إذابة مركبات الفوسفور.

(ب) تعمل الكائنات الحية الدقيقة على معدنة المركبات العضوية مع إنتاج الفوسفات المعدنية.

(جـ) تعمل الكائنات الحية الدقيقة علي تحويل الفوسفات الميسرة غير العضوية إلي مكونات خلوية وذلك بتمثيلها بطريقة مشابهة لما يحدث بالنسبة لعنصر النيتروجين Immobilization.

(د) قيام الكائنات الحية الدقيقة بأكسدة أو اختزال المركبات الفوسفورية غير العضوية، وتعتبر التفاعلات المؤدية إلي معدنة أو تمثيل مركبات الفوسفور من أهم الخطوات التي تتم في دورة الفوسفور في الطبيعة، الفوسفور العضوي في التربة تتراوح نسبته بين ٢٥ – ٨٠٪ من الفوسفور الكلي بها.

والفوسفور في الصورة المعدنية يكون في صورة فوسفات مرتبطة بالكالسيوم أو الحديد أو الألمونيوم ويعتمد ذلك على pH التربة، ففي الأراضي القاعدية تتحول

فوسفات الكالسيوم الأحادية إلى فوسفات ثلاثية غير ذائبة $Ca_3(PO_4)_2$ وتترسب مما يجعلها أقل صلاحية للنباتات ولكن بالرغم من أنها تترسب في صورة غشاء رقيق حول حبيبات التربة فإن لها سطح نوعى كبير مما يعطى الميكروبات وجذور النباتات فرصة كبيرة لتحويلها للصورة الذائبة، أو يوجد الفوسفور في صورة فلورأباتيت (صخر الفوسفات) $3Ca_3\ (PO_4)_2-\ Ca\ Fe$ وهذه الصورة هي أقل صور الفوسفور المعدنية استفادة للنباتات، ولكن أمكن الآن الاستفادة منها عن طريق استخدام لقاحات حيوية من البكتريا المذيبة للفوسفات أو فطريات الميكوريزا.

أما في الأراضي الحمضية فإن الفوسفات تترسب في صورة فوسفات حديد أو ألمونيوم وهى شديدة المقاومة لعملية الإذابة، ويجب التنويه إلي أن أعراض نقص الفوسفور علي النباتات لا ترجع إلي نقص الكمية الكلية من الفوسفور وإنما ترجع إلي قلة كمية الفوسفور القابلة للاستفادة.

أما الصور العضوية فتتضمن الأحماض النووية والفوسفوليبيدات والفيتين والمرافقات الإنزيمية ولذلك فإن الجزيئات المحتوية علي هذه المركبات تعتبر من المكونات الهامة للجزء العضوي من التربة وتعتبر مثل هذه المركبات المكونات الأساسية للفوسفور العضوي حيث أنها تتراوح من ٢٥ –٧٥٪ من مجموع الفوسفور العضوى.

ويمكن الاستدلال علي وجود الأحماض النووية ومشتقات النيوكليوتيدات في التربة مثل وجود قواعد البيورين والبيريميدين المكونة لجزيئات DNA, RNA وهي القواعد المرتبطة من خلال ارتباط سكر الريبوز الخماسى مع الفوسفات، ويحتوى الدبال دائماً علي كميات صغيرة من الفوسفوليبيدات وغالباً ما تكون كمية الفوسفور العضوي المرتبطة علي هذه الصورة مجرد كمية صغيرة تمثل أقل من ٠,١٪ من مجموع الفوسفور العضوي الكلي، إلا أنه في بعض الأحيان قد تصل نسبته إلي ٥,٠٪، والجزء الأكبر من الفوسفوليبيدات قد يكون علي هيئة فوسفاتيديل إيثانول أمين أو فوسفاتيديل كولين، وهي مركبات توجد أيضا في كل من النباتات والكائنات

الحية الدقيقة، والفوسفور يوجد فى المركبات العضوية في الصورة المؤكسدة PO_4^{-3} أما النيتروجين والكبريت فيتواجدان في الصورة المختزلة ($-NH_2$ & SH^-).

إذابة مركبات الفوسفور غير العضوية

Solubilization of organic phosphorus compounds

تعتبر المركبات غير الذائبة من الفوسفور المعدني غير ميسرة للنباتات إلي درجة كبيرة، ولكن يمكن للكثير من الكائنات الحية الدقيقة أن تقوم بتحويلها إلي الصورة الذائبة، ويبدو أن هذه العملية غير نادرة الحدوث، ولقد وجد أن ١٠ –٥٠٪ من العزلات البكتيرية المختبرة لديها القدرة علي إذابة مركب فوسفات الكالسيوم، وأن أعداد البكتيريا المذيبة للفوسفات غير الذائبة في التربة قد تتراوح بين 10^5 إلي 10^7 في الجرام وأنه غالباً ما تتواجد مثل هذه البكتريا بوفرة علي سطوح جذور النباتات، وقد وجد أن أنواع الميكروبات النشطة في هذا المجال تتبع أجناس *Pseudomonas, Mycobacterium, Micrococcus, Brevibacterium, Bacillus, Flavobacterium Streptomyces, Penicillium, Sclerotium, Fusarium, Rhizopus, Serratia, Achromobacter, Sporosarcina and Aspergillus*.

تنمو هذه البكتريا والفطريات في بيئات غذائية تحتوى علي $Ca_3(PO_4)_2$ أو الفلورو أباتيت أو ما يشابه ذلك من المواد الأخرى غير الذائبة كمصدر وحيد من الفوسفات، ولا يقتصر فعل الميكروبات علي مجرد القيام بتمثيل هذا العنصر بل إنها تقوم بتحويل جزء كبير منه إلي الصورة الذائبة بكميات تتجاوز احتياجاتها الغذائية من هذا العنصر، فإذا وضع الفوسفات غير الذائب في صورة معلق في البيئة الغذائية فإنه يمكن تمييز السلالات المسئولة عن إذابة أملاح فوسفات الكالسيوم فقط، بل إنها تعمل أيضاً علي أملاح فوسفات الحديد والألمونيوم والماغنسيوم والمنجنيز وغيرها من مركبات الفوسفات الأخرى، ومما هو جدير بالذكر أن جنس *Arthrobacter* يعتبر من الأجناس البكتيرية الهامة في إذابة الفوسفات في التربة، كذلك تقوم فطريات الميكرويزا بدور هام في إمداد النباتات المتعايشة معها بالفوسفات

الذائبة حيث وجد أن هيفات هذه الفطريات ذات قدرة عالية علي امتصاص الفوسفات وإمدادها للنباتات التى تعيش معها.

ميكانيكية الإذابة Solubilization mechanism

يعتبر إنتاج الميكروبات للأحماض العضوية هو الوسيلة الأساسية التي تمكن الكائنات الحية الدقيقة من تحويل مركبات الفوسفور غير الذائبة إلي الصورة الذائبة. وفي بعض الحالات الخاصة التي تقوم بها الميكروبات الذاتية التغذية الكيميائية بأكسدة النشادر أو الكبريت فإن تحويل مركبات الفوسفور يكون عن طريق حمض النيتريك أو الكبريتيك المتكون بفعل بكتريا التأزت وبكتريا أكسدة الكبريت، وتعمل الأحماض العضوية مثل الفورميك والخليك والبروبيونيك والستريك واللاكتيك والسكسنيك علي تحويل $Ca_3(PO_4)_2$ إلي فوسفات ثنائى وأحادي، وتكون المحصلة النهائية لذلك هو توفير هذا العنصر في صورة ميسرة للنبات، وليس المهم كمية الحمض وإنما نوعية الحمض فلقد وجد أن حمض 2 keto–gluconic يعمل على سرعة الإذابة، وقد يرجع ذلك إلى احتمالية تكوينه لمواد مخلبية مع بعض الكاتيونات مثل الكالسيوم والحديد مما يساعد على الإذابة، وتختلف كمية الفوسفات المتحولة إلي الصورة الذائبة بواسطة الكائنات غير ذاتية التغذية باختلاف نوع المادة الكربوهيدراتية المؤكسدة، وبوجه عام فإن عملية التحول تتم فقط في وجود المواد الكربونية التي يمكن تحويلها إلي أحماض عضوية.

$$Ca_3(PO_4)_2 \longrightarrow CaHPO_4 \longrightarrow Ca(H_2PO_4)_2$$

فوسفات كالسيوم ثلاثية فوسفات كالسيوم ثنائية فوسفات كالسيوم أحادية

وتتفاعل أحماض النيتريك والكبريتيك الناتجة عن أكسدة المركبات النيتروجينية أو مركبات الكبريت غير العضوية مع صخر الفوسفات، وهى بذلك تعمل علي زيادة كمية الفوسفات الذائبة، وتعتبر عملية أكسدة عنصر الكبريت وسيلة بسيطة ولكنها فعالة في توفير صور الفوسفات التي يمكن للنباتات استخدامها، علي سبيل المثال فإنه عند تحضير خليط من التربة أو السماد العضوي مع الكبريت المعدني وصخر الفوسفات فإن استمرار عملية أكسدة الكبريت إلي حمض كبريتيك بواسطة البكتريا

من جنس *Thiobacillus* سوف يصاحبها زيادة في حموضة المخلوط مع إنتاج الفوسفات الذائبة، كما أن تأزت أملاح النشادر وتكوين حمض النيتريك بواسطة Nitrifiers يؤثر إلي حد ما علي إنتاج الفوسفور الذائب من صخر الفوسفات في كومات الأسمدة.

أما تحت الظروف اللاهوائية فإن سرعة الذوبان تزداد بسبب:

١- تكون H_2S تحت هذه الظروف الذي يتفاعل مع الحديد ويرسبه مما يحرر الفوسفات.

٢- تحت هذه الظروف ينخفض جهد الأكسدة والاختزال ويختزل الحديديك إلى حديدوز مما يساعد على تحرر الفوسفات.

٣- أكسدة الكربوهيدرات تكون غير كاملة مع تكون أحماض عضوية.

ولقد أوضحت نتائج الأبحاث الحديثة والتي تناولت تأثير التلقيح بمثل هذه الميكروبات (أى إضافتها للتربة في صورة مخصبات حيوية فوسفاتية) علي تيسير الفوسفور في التربة زيادة ملحوظة في زيادة تيسير الفوسفات في التربة، ولقد أعطي مستحضر ميكروب*Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* والذي يسمي فوسفوبكترين أو فوسفورين نتائج جيدة من حيث تيسر الفوسفور وزيادة امتصاصه بواسطة النباتات المعاملة يمثل هذا اللقاح.

ويجب أن نشير إلي أن التأثير المفيد للتلقيح بهذه البكتريا لا يرجع فقط إلي زيادة إذابة الفوسفات في التربة ولكن وجد أن هذه البكتريا لها القدرة أيضا علي تثبيط بعض الفطريات الممرضة والتي تتواجد في منطقة الريزوسفير حيث تفرز مركبات السيدروفورز وأيضاً إلي قدرة هذه البكتريا علي إفراز مواد منشطة لنمو النباتات مثل الإندولات والجبريللينات والسيتوكينينات.

معدنة مركبات الفوسفور العضوية

Mineralization of organic phosphorus compounds

يؤكد وجود المخزون الكبير من الفوسفور العضوي في التربة والذي لا يمكن استخدامه بواسطة النباتات أهمية دور الكائنات الدقيقة في تحويل هذا الفوسفور العضوي إلي الصور غير العضوية، وتقوم البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات بتحويل الصورة المرتبطة من الفوسفور في بقايا النباتات وفي المادة العضوية للتربة إلي الصورة الميسرة للنباتات من خلال عملية المعدنة، ويتواجد الفوسفور في النباتات في التركيب الكيميائي للأحماض النووية والفوسفوليبيدات والليسثين والفيتين وفوسفات الأدينوسين، وبما أن الفوسفور يتواجد في المركبات العضوية في الصورة المؤكسدة فإنه عند حدوث عملية المعدنة فإن الفوسفور يتحرر في صورة فوسفات ولا يحتاج إلي عملية أكسدة.

تتم معدنة الفوسفور في الأراضي البكر بسرعة أكبر منها في مثيلاتها المنزرعة، وبالإضافة إلي زيادة الكمية الكلية التي تتم معدنتها في الأراضي البكر فإن النسبة المئوية للفوسفور العضوي الكلى الذي يتم تحويله تكون هي الأخرى أكبر في الأرضي البكر عنها في الأراضي المنزرعة، تناسب درجات الحرارة الدافئة عمليات التحلل كما أن المدى الحراري المرتفع المناسب للميكروبات المحبة للحرارة العالية يعتبر أكثر مناسبة من المدى الحراري المتوسط. وتنشط معدلات معدنة الفوسفور نتيجة التعديل في درجة حموضة التربة إلي الحد الملائم لعمليات التمثيل الغذائي الميكروبي بوجه عام، وأن تحويل رقم الأس الهيدروجيني للتربة من الحموضة إلي ناحية التعادل يزيد من معدل إنتاج الفوسفات، أضف إلي ذلك أن معدل المعدنة يرتبط مباشرة بكمية المادة المتحولة وعلي ذلك فإن النشاط في الأراضي الغنية بالفوسفور العضوي يتم بمعدلات أعلي، ووجود الفوسفور غير العضوي لا يعمل علي تثبيط عملية المعدنة فهي تستمر بسرعة حتى في الأماكن التي يتوفر بها الفوسفات وكما هو متوقع، فإن امتصاص النباتات لعنصر الفوسفور يكون مرتبطاً مع معدل معدنة هذا العنصر.

ترتبط كل من عمليتي معدنة وتمثيل هذا العنصر بنفس التفاعلات المناظرة الخاصة بعنصر النيتروجين، وكقاعدة عامة فإن معدل تكوين الفوسفات يزيد تحت نفس الظروف الملائمة لعملية النشدرة، لهذا فقد لوحظ وجود ارتباط مؤكد بين معدلات تحويل كل من النيتروجين والفوسفور إلي الصورة غير العضوية وأن كمية النيتروجين المتحول إلي الصورة المعدنية تبلغ ٨ إلي ١٥ مثل كمية الفوسفات المتحولة إلي الصورة الميسرة، كما يوجد أيضا ارتباط بين الكربون (CO_2 المنطلق) والفوسفور المتحول إلي الصورة المعدنية وأن النسبة بينهما تبلغ حوالى ١٠٠ : ١ إلي ٣٠٠ : ١، تشير هذه النتائج بوضوح إلي أن نسبة C:N:P المتمعدن عن طريق الميكروبات تحت ظروف اتزان التربة تماثل نسب هذه العناصر الثلاثة في الدبال والإنزيمات التى تفصل الفوسفور من معظم المركبات العضوية يطلق عليها في مجموعها اسم إنزيمات الفوسفاتيز وهي تقوم بالتفاعل التالي:

$$R-O-\overset{O}{\underset{OH}{P}}-OH + H_2O \xrightarrow{\text{Phosphatase}} R-OH + HO-\overset{O}{\underset{OH}{\overset{\|}{P}}}-OH$$

والفوسفاتيز الذي يحلل الفوسفوليبيدات والأحماض النووية تعتبر من النوع المحلل للإستر الثنائى، الإنزيمات القادرة علي تحليل الإسترات الأحادية مائياً كثيرا ما يكون لها درجة pH مثلى محددة سواء من ناحية الحموضة أو القلوية، ونظراً لاختلاف درجة الحموضة المناسبة للنشاط الأمثل من إنزيم لأخر فإن مثل هذه الإنزيمات تعرف بإنزيمات الفوسفاتيز الحمضية أو القاعدية.

تحلل الفيتين Phytine decomposition

يشير وجود مركبات فوسفات الإينوسيتول التي يحتوى الجزئ منها علي خمس ذرات أو اقل من الفوسفور في التربة إلي أن تحلل الإينوسيتول سداسى الفوسفات هو أحد العمليات التي تحدث بالفعل في التربة، ويعمل إنزيم الفيتيز علي تحرير الفوسفات من حمض الفيتيك (الفيتين) أو أملاح الكالسيوم والماغنسيوم لهذا الحمض أو الفيتين مع تراكم الإينوسيتول.

Phitc acid $+6H_2O \xrightarrow{Phytase}$ Inositol $+6H_3PO_4$

شكل (٣-١): تحلل الفيتين وإنتاج الإينوسيتول

ويعمل الإنزيم علي المركب سداسى الفوسفات وغالباً ما يزيل منه مجموعات الفوسفات الواحدة تلو الأخرى لينتج منه مركبات خماسية ورباعية وثلاثية وثنائية وأحادية الفوسفات، وفي النهاية يتكون الإينوسيتول الحر، بعض الميكروبات يمكنها تكسير المركبات خماسية أو رباعية الفوسفات فقط بينما لا يمكنها تكسير الفوسفات السداسية، كما تختلف أيضا أنواع الإنزيمات المتكونة من حيث أن بعض أنواع الميكروبات تنتج إنزيم الفيتيز كإنزيم داخلى، بينما تفرز أنواع أخرى إنزيما أخر خارجيا. أضف إلي ذلك أن بعض إنزيمات الفيتيز تعتبر متخصصة بحيث تعمل فقط أو بصفة أساسية علي مركبات فوسفات الإينوسيتول، والبعض الأخر من هذه الإنزيمات يعتبر من إنزيمات الفوسفاتيز غير المتخصصة بحيث تعمل علي إزالة الفوسفور من المركبات العضوية المختلفة، ولقد لاحظ بعض الباحثين أن أعداد الميكروبات المحللة للفيتين تكون أكبر في منطقة الريزوسفير بالمقارنة بالأعداد في التربة البعيدة، يعتبر نشاط إنزيم الفيتيز من النشاطات الواسعة الانتشار حيث أن حوالي ٣٠ - ٥٠٪ من الميكروبات المعزولة من التربة يمكنها تخليق هذا الإنزيم، كما يزداد نشاط هذه الميكروبات في الطبيعة عند إضافة المواد الكربونية التي تعمل علي زيادة كثافتها العددية. وقد وجد أن أنواع الميكروبات القادرة علي تخليق هذا الإنزيم تتبع أجناس *Aspergillus, Penicillium, Rhizopus, Bacillus, Pseudomonas, Streptomyces, Arthrobacter* مع ذلك فإنه علي الرغم من وجود النشاط الكامن لإنزيم الفيتيز بدرجة عالية فإنه لا يحدث تمثيل لمركبات الفيتين بكثرة في التربة، ويبدو أن قدرة الكائنات الدقيقة المنتجة لإنزيم الفيتيز قدرة عالية بالفعل ولكن ليست هي العامل المحدد لحدوث عمليات التحليل

المائى لهذا المركب، بل إن قلة حدوث مثل هذا التحليل في التربة يرجع إلي وجود حمض الفيتيك بكميات صغيرة في محلول التربة.

تحلل الفوسفوليبيدات Phospholipids decomposition

الفوسفوليبدات **Phospholipids** هي عبارة عن مركبات من الليبدات مرتبطة مع الفوسفات ، وتقوم البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات باستخدام الفوسفوليبيدات كمصادر للفوسفور، ويؤدي التحلل البيولوجي لها إلي تحرر الفوسفات منها بواسطة إنزيم **Phosphatase**، ويوجد مركبات تتبع الفوسفوليبيدات منها الليسيثين **Lecithin** والسيفالين **Cephalin**، وتوجد فيها الفوسفات في رابطة استر مع قاعدة نيتروجينية **Nitrogen base**، لذلك فإن تحلل السيثين بيولوجيا يعطي على سبيل المثال، جليسرول، حمضين دهنيين، فوسفات وقاعدة نيتروجينية هي قاعدة الكولين ويتم التحلل كالأتي:

$$\begin{matrix} H_2-COO-R \\ H-COO-R \\ H_2CO- \end{matrix}\; \overset{O}{\underset{OH}{\overset{\|}{P}}} - O - CH_2-CH_2-\overset{OH}{N}(CH_3)_3 + 4H_2O \xrightarrow{\text{Lecithinase}}$$

Lecithin

$$\longrightarrow 2\,R-COOH + \begin{matrix} CH_2OH \\ CHOH \\ CH_2OH \end{matrix} + HO-CH_2-CH_2-N \begin{matrix} OH \\ CH_3 \\ CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} + H_3PO_4$$

2 Fatty acids + glycerol + Choline base

Phosphoric acid

شكل (٣-٢):تحلل الليسثين وإنتاج الأحماض الدهنية

ويوجد في التربة العديد من الميكروبات القادرة على تحليل الليسثين منها الميكروبات التابعة لجنس *Pseudomonas* , *Chromobacterium* ومنها الأنواع التالية:

Pseudomonas longa, Ps. trucosa, Ps liquefactions, Chromobacterium flavum.

ولقد أمكن عزل ميكروبات قادرة على تحليل الليسثين من على جذور النباتات واتضح أن أعداد هذه الميكروبات في منطقة الريزوسفير أكثر من التربة البعيدة عن الجذور حيث تصل أعداد هذه الميكروبات إلي ٢,٧ مليون خلية / جم تربة جافة بينما تصل في منطقة الريزوسفير إلي ١٠ أضعاف هذا العدد.

يؤثر وجود فطريات الميكوريزا تأثيرا هاماً علي النباتات التي تشارك جذورها في مثل هذا النوع من التعايش، ففي الأراضي الفقيرة في الفوسفور ينشط نمو النباتات بدرجة ملحوظة إذا ما كان هناك تعايش بين جذور النبات والميكوريزا، وذلك علي العكس من حالة عدم احتواء الجذور علي هذا الفطر، ويؤدي هذا التعايش في الأوساط البيئية الفقيرة في الفوسفات إلي امتصاص النبات للفوسفور بمعدلات تماثل نفس المعدلات الممتصة في حالة التسميد بالأسمدة الفوسفاتية وقد لوحظ مثل هذا التأثير للتعايش بين النبات والكائنات الدقيقة الأرضية في بعض النباتات أيضا مثل القمح وفول الصويا والبصل والصنوبر والذرة، وقد أدت زيادة معدلات تمثيل الفوسفات في مثل هذه الحالات إلي اعتبار أن التلقيح بهذه الفطريات قد تكون له أهمية كبيرة. لم يتم التوصل إلي تفهم كامل فيما يتعلق بكيفية عمل فطريات الميكوريزا علي تشجيع امتصاص الفوسفور أو فيما يتعلق أيضاً بنوع المركبات التي يؤخذ منها هذا العنصر، وقد تكون هناك كميات كبيرة من الفوسفور ناشئة عن وجود الفوسفات المعدنية غير الذائبة التي يمكن لهيفات الفطر الكثيفة أن تستغلها وتلك بالمقارنة بحالة عدم إصابة جذور النبات بهذه الفطريات كما يمكن أيضاً أن تتضمن العملية حدوث معدنة للفوسفور بدرجة كبيرة.

فطريات الميكوريزا Mycorrhizeae

تمثل الميكوريزا أو الجذور الفطرية Fungal roots علاقة تعاون بين الفطريات والجذور النباتية وخلال هذه العلاقة يتواجد جزء من الميسليوم الفطرى في أنسجة العائل والجزء الأخر بالتربة المحيطة بالجذور حيث ينتشر بها وفي معظم الأحوال فإن العوائل المصابة بهذه الفطريات تنمو بدرجة تفوق تلك غير المصابة، وتنتمي فطريات الميكوريزا من الناحية التقسيمية إلي الفطريات الزيجية أو الأسكية أو البازيدية.

أنواع الميكوريزا Types of mycorrhizeae

يمكن تمييز أربعة أنواع رئيسية من الميكوريزا علي أساس الصفات المورفولوجية للإصابة وكذلك نوع العائل النباتي وسوف نركز علي نوعين فقط من الميكوريزا هما الميكوريزا المكونة للأوعية والتفرعات الشجيرية Vesicular arbuscular mycorrhizeae والتي تمثل أحد أنواع الميكوريزا الداخلية Endotrophic mycorrhizeae أو Endophyte mycorrhizeae والميكوريزا الخارجية Ectotrophic mycorrhizeae أو Ectophyte mycorrhizeae .

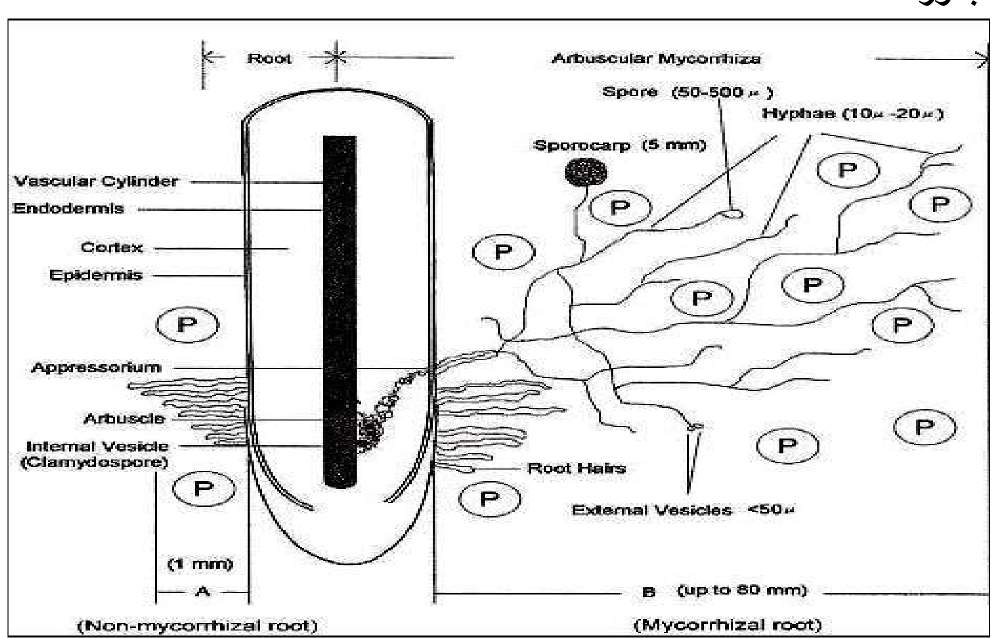
١ - الميكوريزا المكونة للأوعية والتفرعات الشجيرية(الداخلية)

Vesicular Arbuscular Mycorrhizeae (Endomycorrhizeae)

وهي تمثل أكثر أنواع الميكوريزا انتشارا حيث لوحظ وجودها في أكثر من ١٠٠٠ جنس نباتي تنتمي إلي ٢٠٠ عائلة نباتية ، وتشتق التسمية بالـ Vesicular arbuscular من التركيبات التي يكونها الفطر داخل أنسجة العائل فالتفرعات الشجيرية Arbuscules عبارة عن تفرعات ثنائية لهيفات الفطر داخل خلايا العائل ووجودها لا يضر بالغشاء الخلوى والتفرعات الشجيرية هي التي يتم من خلالها عملية تبادل المواد الغذائية بين كل من الفطر والنبات(الكربوهيدرات والأحماض الأمينية من النبات للفطر والفوسفات والعناصر المعدنية من الفطر للنبات) وهي توجد بطبقة القشرة وتتكون بعد عدة أيام من غزو الفطر لجذور العائل

وتتحلل بعد أسبوعين إلي ثلاثة ليتكون بدلا منها ، هيفات الفطر المتصلة بجذر النبات العائل أو الممتدة فى التربة بعيداً عن الجذور تعمل كشبكة إضافية من الشعيرات الجذرية وتنقل العناصر الغذائية من التربة إلى التفرعات الشجيرية للفطر داخل قشرة جذر العائل ومنها إلى أجزاء النبات المختلفة.

أما الأوعية Vesicles فهي عبارة عن انتفاخات متصلة بهيفات الفطر بيضاوية الشكل أو مستديرة وهي طرفية الموضع وأحياناً بينية توجد بين خلايا القشرة أو بداخلها وتعمل الأوعية كأعضاء تخزين وتتميز بأنها غنية في محتواها من الليبيدات وفي جذور الخلايا المسنة تتحول إلي جراثيم تخرج إلي التربة عند تحلل الجذور.



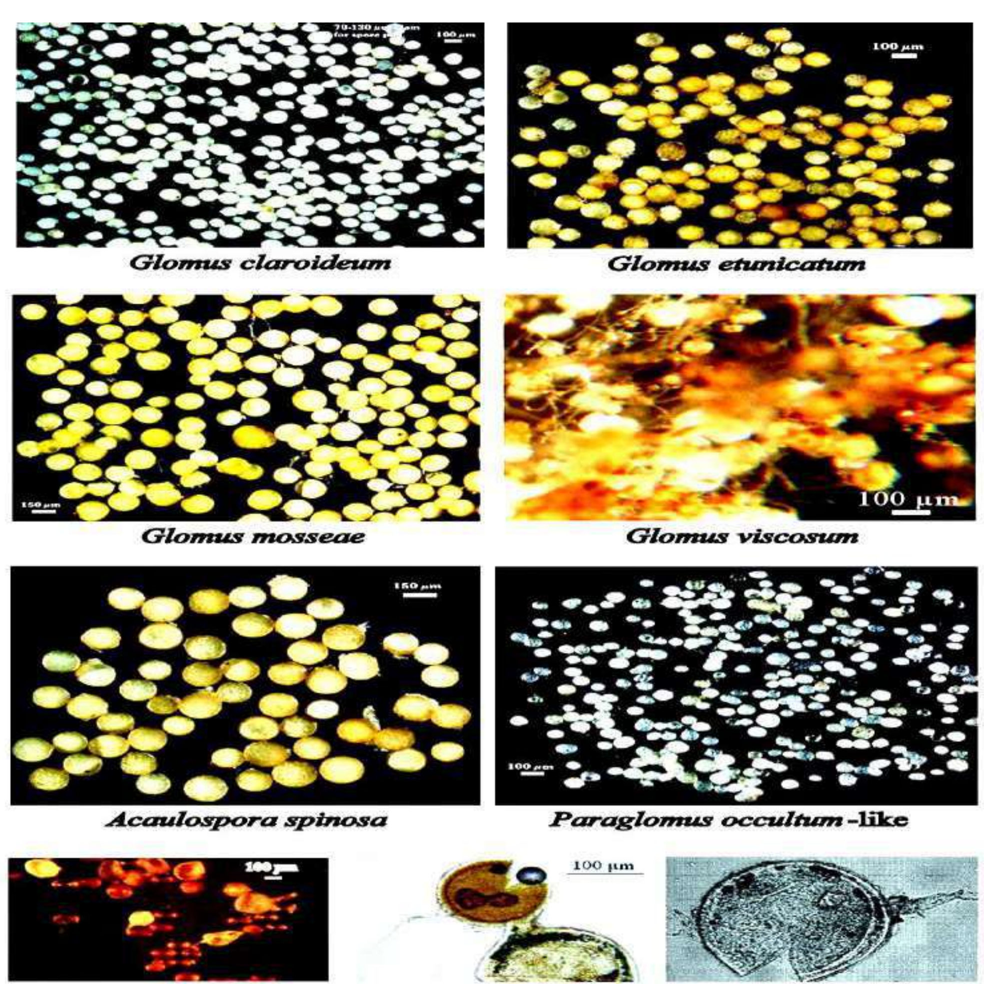
شكل (٣-٣) : رسم تخطيطي يوضح التفرعات الشجيرية التي تكونها فطريات الميكوريزا داخل خلية العائل

وتنتمي فطريات هذه المجموعة إلي الفطريات الزيجية **Zygomycotina** التي تضم رتبتين الأولى **Endogonales** والجنس النموذجي لهذه العائلة هو ***Endogone*** والرتبة الثانية **Glomales** التي تضم أجناس ***Sclerocystis, Glomus, Entrophospora Acaulospora, Scutellospora*** **and** ***Gigaspora*** وينتج الجنس الأول والثاني ***Glomus*** **and** ***Sclerocystis***

جراثيماً كلاميدية فقط في حين تكون الأربعة أجناس الأخرى جراثيم لازيجية **Azygospores** ويتم التمييز بين هذه الأجناس عموما على أساس خصائص الجراثيم والعلاقة بين الجرثومة والهيفا المتصلة بها.

ويسود تواجد جراثيم الـ **VA–mycorrhizeae** في عديد من الأراضي وهي ذات أحجام كبيرة فقد يصل قطرها إلي ٥٠٠ ميكرومتر حسب النوع لذلك فيمكن عزلها من التربة بمناخل ذات سعة ثقوب مناسبة ويطلق علي هذه الطريقة المبتلة **Wet sieving** وهي الطريقة الشائعة للحصول علي لقاح للتجارب العملية ولا يستطيع أى من فطريات هذه المجموعة أن يعيش مترمماً بعيدًا عن العائل إلا لفترة محدودة حيث أنها تعتبر **Obligate symbiont** أي إجبارية التكافل .

تبدأ الإصابة للجذور عند إضافة لقاح الميكوريزا للتربة وقت الزراعة في الأسابيع الأولى من عمر النبات عندما تتفتح أوراقه ويزداد نشاطه التمثيلي والجذور عادة ما تصاب بواسطة الهيفات الموجودة بالجذور المجاورة أو من الجراثيم أو المضافة للتربة ، تنبت الجراثيم معطية أنبوبة إنبات واحدة أو عدد قليل من الأنابيب التي تنمو خلال التربة حتى يصبح بينها وبين سطح الجذر بضع ملليمترات حيث تتفرع لتعطي هيفات وعندما تلامس قمة الهيفات سطح الجذر فإنها تنتفخ لتعطي عضو التصاق **Appressorium** والذي من خلاله تقوم الهيفا باختراق الجذر من منطقة القشرة حيث تنتشر بين الخلايا وخلالها ، وعموماً يتركز وجود الهيفات في منطقة القشرة وتؤدي إصابة الجذور بهذا النوع من الميكوريزا إلي زيادة طفيفة في سمك طبقة القشرة وزيادة في تفرع الشعيرات الجذرية الدقيقة مع تغير طفيف في اللون إلي أصفر مخضر لإفراز تلك الفطريات لصبغة خاصة.



شكل (٣-٤) :أشكال بعض جراثيم فطريات الميكوريزا

٢- الميكوريزا الخارجية Ectomycorrhizeae

وهي التي ترتبط بالأشجار والشجيرات التي تعيش في المناطق التي يكون النمو فيها موسميا ولقد وجد أحد العلماء أن ٣٪ فقط من النباتات الزهرية تتكافل مع الميكوريزا الخارجية ولكنها تتضمن أنواعا تسود في مناطق عديدة.

والصفة الأساسية التي تميز الميكوريزا الخارجية هي شكل الإصابة علي قمة الأفرع النهائية للجذور أو بمعني أخر المناطق المسئولة عن الامتصاص بالمجموع الجذري والتي تنتج الشعيرات الجذرية في الجذور غير المصابة فبدلا من ذلك نجد أن هذه المناطق تغطي بغلاف من الأنسجة الفطرية يصل سمكه من ٢٠-٤٠ ميكرومتر

والذي يحيط أيضاً بقمة الجذر وتمتد الهيفات الفطرية من الغلاف لداخل الجذر في منطقة القشرة علي صورة تفرعات معقدة تعرف بالشبكة Harting net والتي تمر بين الخلايا دون اختراقها وهذه القمم الجذرية المصابة تعرف بالـ Ectomycorrhizal organs والتي تصل نسبة الفطر بها إلي ٢٥٪ من الوزن الجاف في أشجار الصنوبر، ٤٠٪ في أشجار الزان وتمتد بعض الهيفات خارجياً من الغلاف للتربة، وتتميز الـ Ectomycorrhizal organs بأنها أكثر سمكاً وهشة بدرجة أكبر كما أنها ملونة بصورة تميزها عن الجذور غير المصابة وهي تعطي تفرعات كثيرة محدودة النمو وتتميز هذه الأعضاء في أشجار الصنوبر بأنها تعطي تفرعات ثنائية.

ومن الأجناس التي تتبع هذه المجموعة *Boletus, Lactarius* and *Amanita* وكذلك *Elaphomyces* ولقد وجد أن معظم الأجناس الفطرية التي تتكون تحت سطح الأرض مثل الكمأة Truffles والتي توجد في غابات الأشجار الخشبية تتكون بفعل فطريات الميكوريزا الخارجية والفطريات الزيجية التي تكون هذا النوع من الميكوريزا تنحصر في الأنواع التابعة لجنس *Endogone* فقط.

ويمكن تنمية معظم أنواع الميكوريزا الخارجية علي البيئات المعملية وهي بطيئة النمو وذات احتياجات معقدة من الفتيامينات والأحماض الأمينية كما أنها غير قادرة علي تكسير المواد السليولوزية مما يجعلها غير قادرة علي أن تنمو بصورة مترممة بعيدا عن عوائلها.

العدوى Infection

تحدث الإصابة للجذور مع بداية نمو الشتلات حيث تشجع إفرازات جذور العائل إنبات جراثيم فطر الميكوريزا ثم يتكون نسيج من الهيفات الفطرية حول المجموع الجذري وتحدث الإصابة في المنطقة التي يبدأ عندها تميز أوعية الخشب الأولية في المنطقة التي تلى قمة الشعيرة الجذرية مباشرة حيث تخترقها الهيفات لتتواجد بين الخلايا وتتفرع لتكوين الـ Harting net والتي ينحصر وجودها في طبقة القشرة الخارجية وأحياناً يمتد للداخل ولكنها لا تخترق الأندودرمس وما خلفها

وعلي عكس الإصابة التي تحدثها الفطريات الممرضة فإن فطريات الميكوريزا تطيل من حياة خلايا القشرة المجاورة لها.

تأثير الميكوريزا علي العائل النباتى

Effect of mycorrhizeae on host plant

أظهرت كثير من الدراسات التي أجريت علي النباتات المصابة بالميكوريزا المكونة للأوعية والتفرعات الشجيرية **VA-mycorrhizas** وكذلك الميكوريزا الخارجية **Ectomycorrhizas** أنها غالبا ما تكون كمية أكبر من المادة الجافة بالإضافة إلي زيادة محتواها من العناصر الغذائية مقارنة بالنباتات غير المصابة ، كما وجد أيضاً أن النباتات المصابة بالميكوريزا تكون نسبة المجموع الجذري : المجموع الخضري فيها أقل من تلك غير المصابة ولكن وزن المجموع الجذرى للنبات المصاب يكون أكبر ويرجع ذلك لزيادة الوزن الجاف الكلى للعائل النباتي .

ويعزي التأثير الإيجابي للميكوريزا علي العائل النباتي إلي أن هيفات الفطر المتصلة بالجذر والممتدة بالتربة تعمل كشبكة إضافية من الشعيرات الجذرية تنقل الماء والعناصر الغذائية من التربة إلي التفرعات الشجيرية بالفطر داخل قشرة جذر العائل ومنها إلي أجزاء النبات المختلفة ، ولقد وجد أن الميكوريزا أكثر تأثيرا علي امتصاص العناصر الغذائية التي تتحرك أيوناتها ببطء إلي المجموع الجذري مثل أيونات الفوسفات والأمونيوم ويزداد تيسر الفوسفور للنبات بما تفرزه الميكوريزا من إنزيمات مثل الفوسفاتيز أو بالقدرة العالية للهيفات علي الوصول لأيونات الفوسفات مقارنة بالشعيرات الجذرية وكذلك تشجيعها لجذور العائل علي إفراز الأحماض و CO_2 الذي يزيد من ذوبان الفوسفات، والدور المميز لفطريات الـ **VA-mycorrhizas** في هذا المجال يزيد من أهميتها في أراضى حوض البحر الأبيض المتوسط وأراضى المناطق تحت القلوية حيث ارتفاع رقم الـ **pH** ونسبة كربونات الكالسيوم والقدرة العالية علي تثبيت الفوسفور تجعل هذا العنصر يتحول إلي صورة غير صالحة لامتصاص النبات علاوة علي أن درجات الحرارة المرتفعة نسبيا تزيد من نشاط الفطريات بهذه الأراضى عن أراضى المناطق المعتدلة الحرارة أو الباردة، أما

بالنسبة للنتروجين فقد أظهرت الدراسات العلمية التي أجراها العلماء باستخدام ^{15}N أن معدلات تدفق النيتروجين خلال هيفات VA-mycorrhizas تشابه تلك الخاصة بالفوسفور ، كما أن الإصابة بالميكوريزا تزيد من نشاط إنزيم الـ Glutamine synthetase وهذا الإنزيم معروف بقابليته العالية للارتباط بالأمونيا وبالتالى قد يلعب دوراً هاماً في امتصاص الأمونيا بواسطة الفطريات، وقد لوحظ أن بعض النباتات المصابة بفطر الميكوريزا قد زاد محتواها من الزنك عندما نميت في أراضى فقيرة في هذا العنصر وتزيد هذه الفطريات أيضا من امتصاص النبات لبعض العناصر الأخرى مثل البوتاسيوم والنحاس والكبريت وبعض العناصر الثقيلة.

كما وجد أن فطريات الميكوريزا يمكن أن تسود في منطقة الريزوسفير إلي الحد الذي يجعلها تمنع نمو الفطريات الأخرى ويعتقد أن هذه الفطريات قد تنتج مواداً طبيعية تضاد الفطريات الأخرى Antagonistic substances كما أن وجود الـ VAMبالجذور يقلل من إصابتها بالمسببات المرضية وذلك إلي قدرة هذه الفطريات علي:

أ- إحداث تغيير في تركيب إفرازات جذور العائل خاصة بزيادة محتواها من الأرجنين.

ب-زيادة سمك الجدر الخلوية لمنطقة القشرة بالجذر.

جـ- تعويض ما قد يصاحب الإصابة بالكائن الممرض من إفراز بالمجموع الجذرى من خلال إمداده بالعناصر الغذائية.

وتستطيع بعض فطريات الميكوريزا الخارجية مثل عديد من الفطريات الأخرى إنتاج منظمات النمو النباتية تحت الظروف المعملية ومن أمثلة هذه المواد إندول حمض الخليك ، الإيثيلين ، وأيضاً إنتاج مواد تشبه السيتوكينين في الفعل الفسيولوجي وقد يعزي إلي منظمات النمو هذه أنها هي المسئولة عن التغيرات المورفولوجية والفسيولوجية في الجذور النباتية نتيجة الإصابة.

مما سبق يتضح أن فطريات الميكوريزا تلعب دوراً مهماً في زيادة خصوبة التربة الزراعية وزيادة إنتاجية المحاصيل بسبب ما يلي :

١- تزيد هذه الفطريات من مساحة سطح المجموع الجذري.

٢- تقوم هذه الفطريات بإفراز إنزيم الفوسفاتيز والذي يزيد من تيسر الفوسفات العضوية.

٣- للميكوريزا تأثير منشط علي امتصاص العناصر الأخرى غير الفوسفور مثل النيتروجين والعناصر الصغري.

٤- تزيد هذه الفطريات من قدرة النبات علي امتصاص المياه بسبب زيادة سطح المجموع الجذري.

٥- تزيد من قدرة الجذور علي إفراز الأحماض العضوية وثاني أكسيد الكربون مما يؤدي إلي زيادة تيسر العناصر الغذائية في التربة.

٦- لها القدرة علي إفراز بعض المواد المنشطة للنمو مثل الأوكسينات والجبريللينات والسيتوكينينات.

٧- تؤدي إلي حماية النباتات من بعض الأمراض المحمولة في التربة Soil borne diseases.

٨- تعمل الميكوريزا علي تجميع حبيبات التربة.

٩- يمكن استخدامها كلقاح مذيب للفوسفات في الأراضي الملحية حيث وجد أنها تتحمل تركيزات عالية من الملوحة.

التحولات الميكروبية للكبريت

يعتبر الكبريت أحد العناصر الأساسية للنبات والحيوان، وعلي الرغم من وفرة هذا العنصر في القشرة الأرضية فإنه كثيرا ما قد يوجد في التربة إما بكميات أقل من الحد الأمثل أو في عدة صور غير ميسرة حتى أنه كثيرا ما يكون هناك استجابة لإضافة الكبريت إلي التربة في صورة أسمدة معدنية، يشكل الجزء العضوي من التربة المخزون الرئيسي من هذا العنصر، والتحولات الميكروبية هي العامل الأساسي في تحويله إلي الصورة الميسرة، فبالنسبة لهذا العنصر فإن هناك تشابها كبيرا في عمليات التحول للنيتروجين والكبريت إلي الصورة الميسرة، فالكائنات الدقيقة تعتبر العامل الوحيد المسئول عن تحويل كل من هذين العنصرين من الصورة العضوية إلي الصورة المعدنية الميسرة، ويحتوي الهواء الجوي أيضا علي كميات كبيرة من الكبريت ناتجة عن احتراق الفحم أو غازات المصانع أو حتى نتيجة نشاط الكائنات الحية الدقيقة.

وعموماً يصل الكبريت إلي التربة الزراعية من خلال:

١. بقايا النباتات وخاصة نباتات العائلة الصليبية مثل الكرنب والقنبيط .

٢.المخلفات العضوية.

٣.مياه الأمطار.

٤.الأسمدة المحتوية علي كبريتات مثل السوبرفوسفات.

٥.الكبريت الذى يضاف للتربة في صورة مخصب أو مبيد.

تعتبر الصور المختلفة من الكبريت العضوي وغير العضوى مناسبة لعمليات التمثيل الغذائى في التربة، وتتحكم الظروف البيئية التى تؤثر علي الميكروبات وعلي نشاط الكائنات الحية الدقيقة في التربة إلي درجة كبيرة في سيادة نوع من التحولات الحيوية لعنصر الكبريت علي نوع أخر.

ويمكن تحديد أربع عمليات حيوية مميزة لتحولات الكبريت فى التربة هي:

(أ) تحلل المركبات العضوية المحتوية علي الكبريت، وهي العملية التي يتحلل فيها الجزيئات الكبيرة إلي وحدات أصغر، وهذه بدورها تتحول بعد ذلك إلي مركبات غير عضوية.

(ب) عملية التمثيل الميكروبى للمركبات البسيطة من الكبريت وتحويلها إلي مواد مرتبطة داخل خلايا البكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات.

(جـ) أكسدة الايونات غير العضوية والمركبات الأخرى مثل الكبريتيدات والتتراثيونات والثيونات العديدة والكبريت المعدني.

(د) اختزال الكبريتات والأنيونات الأخرى إلي كبريتيد.

عندما تختلط البروتينات الموجودة داخل أنسجة النباتات والحيوانات بالتربة فإنها تتحلل مائيا بواسطة الميكروبات إلي أحماض أمينية، ثم تتراكم الكبريتات والكبريتيد عند مهاجمة الكائنات الدقيقة لهذه الأحماض الأمينية خاصة المحتوية على كبريت والجزيئات الأخرى المحتوية علي الكبريت، وفي الأوساط البيئية جيدة التهوية فإن الكبريت المرتبط في الصورة العضوية يتحول في النهاية إلي كبريتات، بينما يتراكم H_2S تحت ظروف غمر التربة بالماء أو تحت الظروف اللاهوائية الأخرى، ويوجد جزء من الكبريتيد المتراكم ينشأ أصلا عن اختزال الكبريتات بينما يكون الجزء الأخر منه ناتجاً من خلال معدنة الكبريت العضوي.

تتشابه التحولات الخاصة بعنصر الكبريت مع التحولات الميكروبية لعنصر النيتروجين إلي درجة كبيرة ونظراً لأن كلا من العنصرين يدخل في تكوين البروتوبلازم فإنه يجب تمثيل كل منهما خلال مراحل تكاثر الميكروبات، ويكثر وجود هذين العنصرين في التربة علي الحالة العضوية، ولذا فإنه يلزم لتحويلهما إلي صورة عناصر ميسرة أن تقوم الكائنات الحية الدقيقة بتحليل هذه المواد العضوية. كما تتأكسد مركبات الكبريت غير العضوية بطريقة تماثل عملية تأزت النشادر والنتريت، وأن الظروف الملائمة لاختزال الكبريتات تتشابه تماما مع الظروف المناسبة لاختزال النترات.

معدنة الكبريت العضوي Mineralization of organic sulfur

تمتص جذور النباتات عنصر الكبريت أساسا في صورة أيونات الكبريتات وذلك علي الرغم من إمكانها تمثيل العديد من الأحماض الأمينية دون سابق تحليلها، كما يعمل ثاني أكسيد الكبريت الموجود في الهواء الجوي علي إمداد النباتات أيضا بجزء من احتياجاتها من هذا العنصر، ومع ذلك فإن الكبريتات تختزل داخل أنسجة النبات إلي مجموعات السلفاهيدريل (SH−) ونظراً لاحتياج نباتات المحاصيل ومختلف النباتات الأخرى لوجود الكبريت في محيط الجذور، فإن معدنة الكبريت العضوي تعتبر أحد التفاعلات الميكروبية الهامة اللازمة لحياة الكائنات الراقية.

تعمل الميكروبات علي عدد متنوع من المركبات العضوية المحتوية علي الكبريت مثل الأحماض الأمينية الكبريتية Methionine, cysteine cystine والجلوتاثيون والثيويوريا والثيامين والبيوتين وحمض الليبويك.

Cysteine Cystine Methionine

شكل (٣-٥):التركيب البنائى لبعض الأحماض الأمينية الكبريتية

عند إضافة بقايا النباتات والحيوانات إلي التربة يتحول الكبريت إلي الصورة المعدنية، وجزء من ناتج المعدنة تستخدمه الميكروبات لتخليق الخلايا بينما ينطلق الجزء الأخر إلي التربة، وتحت الظروف الهوائية فإن الكبريتات تكون هي الناتج النهائى غير العضوي من الكبريت، أما في غياب O_2 الهواء الجوي خصوصاً عند تحلل المواد البروتينية فإنه يتراكم H_2S ومركبات الحديد ذات الرائحة المميزة. ويوجد كثير من الأجناس البكتيرية التي تتميز بقدرتها علي إنتاج H_2S من البروتينات المتحللة جزئياً، ولذلك من المحتمل أن تكون الكبريتيدات هي أهم المركبات الرئيسية

غيـر العضـوية التــي تنــتج خــلال مراحـل تحلـل المـواد البروتينيــة تحـت الظـروف اللاهوائية.

تحدث عملية معدنة الكبريت في الدبال ببطء وكثيراً ما تكون سرعة المعدنـة غير كافيـة لمواجهـة الاحتياجـات الكليـة للنباتـات الناميـة مـن هـذا العنصر، حيث نجد أن الكثير من مكونات الجزء العضوي من التربة يهاجمها الميكروبات بدرجة متساوية.

عند إضافة السيستين أو السيستئين إلـي التربـة جيدة التهويـة فإن الكبريت الموجود داخل الحمض الأميني يتحول إلي كبريتات ويتم التحـول بمعدل سريع نظراً لكثرة أنواع الكائنات الدقيقة التي تعمل علي مهاجمة هذين المركبين.

Cysteine → (O_2) → Cysteine sulfinic acid

Hypotaurine → Taurine

Pyruvate + Sulfite → Sulfate

تتم أكسدة حمض سلفنيك وحمض السيستئين، المفترض وجودهما كنـواتج وسطية في كثير من الأراضى، إلي كبريتيت $SO_3^{=}$ وكبريتـات $SO_4^{=}$ فـي المزارع الميكروبيـة، وفـي حالـة تكون الكبريتيت فإنـه سرعان مـا يتأكسد إلـي كبريتـات، وهو تفاعل يتم حتى في عدم وجود نشاط ميكروبى، وتعتبر قدرة الميكروبـات علـي أكسدة الكبريت في السيستين إلي كبريتات من الأمور المألوفة، ولقد تـم التعرف علـي عديد من الفطريات النشطة فـي هذا المجـال، وبالمثـل فإنـه يمكن لكثيـر مـن الكائنـات غيـر ذاتيـة التغذيـة تحويـل الكبريـت الموجـود فـي المركبـات الأخـرى ذات التركيـب البنـائى R–SH إلي كبريتات، ومن ناحية أخرى فإن هناك كثيراً من البكتريا يمكنها عند النمو في مزارع نقية أن تقوم بنزع مجموعة السلفاهيدريل مـن السيستئين عن طريق إنـزيم

السيستئين ديسلفوهيدريز الذي يعمل علي إنتاج كميات متساوية جزئياً من حمض البيروفيك و H_2S و NH_3.

كما هو الحال بالنسبة لنشدرة النيتروجين العضوي فإن معدل تكوين الكبريت المعدنى يتأثر بمحتوى المادة من الكبريت وبنسبة C:S في هذه المادة المتحللة، تتراكم الكبريتات في التربة في حالة وجود الكبريت في المادة العضوية بكميات تتجاوز احتياجات الميكروبات من هذا العنصر، ومن التقديرات الدقيقة التي أجريت فإنه يمكن افتراض أن النسبة المئوية للكبريت الذي تتم معدنته سنوياً تماثل نسبة النيتروجين بنسبة ١ - ٣٪ من المحتوى الكلى للعنصر في أراضى المناطق المعتدلة الرطبة، وأن معدل معدنة الكبريت يتأثر بنفس العوامل البيئية التي تؤثر بصفة عامة في نمو الميكروبات.

ولقد أوضحت بعض الدراسات أن عملية المعدنة لمركبات الكبريت العضوي ينتج منها كبريتات وليس كبريتيد الأيدروجين H_2S كما يلي:

Cysteine ⟶ Cystine ⟶ Cystine disulfoxide

Cystine disulfoxide ⟶ Cysteine sulfinic acid

Cysteine sulfinic acid ⟶ Pyruvate + Sulfate

ومما هو جدير بالذكر أن الميكروبات عندما تقوم بتحليل المادة العضوية المحتوية علي الكبريت تأخذ جزء من كبريت المادة العضوية لبناء خلاياها والباقى يحدث له معدنة Sulfur mineralization وخصوصاً عندما تكون نسبة C:S ratio في المادة العضوية ضيقة، والنسبة الحرجة للكبريت ١,. -٢, . وعلي العكس من ذلك فإن الميكروبات عندما تحلل المادة العضوية المحتوية علي الكبريت بنسبة قليلة أي أن نسبة C:S ratio في المادة العضوية واسعة ١:٢٠٠ إلى ١:٤٠٠ فإنها تلجأ إلي الكبريتات الذائبة قي التربة لأن الكبريت المتواجد في المادة العضوية غير كافى لنشاط الميكروبات وفي هذه الحالة يحدث ما يسمي Sulfur immobilization حيث يحدث نقص مؤقت في الكبريتات الميسرة لحين موت وتحلل الميكروبات وانطلاق ما بها من كبريتات مرة أخرى.

أكسدة مركبات الكبريت غير العضوي

Oxidation of inorganic sulfur compounds

يوجد عدة مركبات من الكبريت غير العضوي القابلة للتحولات الحيوية وهي علي عدة درجات من الأكسدة ابتداء من -٢ للكبريتيد إلي +٦ للكبريتات، ولا تتم جميع هذه التحولات في التربة نتيجة تفاعلات إنزيمية بل أن هناك كثيرا من الخطوات التي تتم بالطرق غير الحيوية ، فالكبريتيدات والكبريت المعدني والثيوكبريتات يمكن أن تتأكسد في التربة بالوسائل الكيميائية ببطء ولكن عند توفر الظروف الملائمة فإنها تتأكسد بواسطة الكائنات الحية الدقيقة بسرعة كبيرة، فعندما تصبح الظروف في التربة مقاربة للظروف المثلي من حيث الرطوبة والحرارة فإن التغيرات بفعل العوامل الكيميائية تكون ضئيلة جدا إذا ما قورنت بالمعدلات العالية للتحولات الميكروبية، ميكروبات التربة القادرة علي أكسدة الكبريت غير العضوي قد تكون ذاتية أو غير ذاتية التغذية، فالبكتريا التي تستخدم مثل هذه الجزيئات في إنتاج الطاقة معظمها يتبع جنس *Acidithiobacillus* وجنس *Thiobacillus* وهي بكتريا سالبة لصبغة جرام غير متجرثمة، ، فميكروب *A. thiooxidans* ذاتي التغذية الكيميائية حتماً والذي يقوم بأكسدة الكبريت المعدنى يستطيع أن ينمو عند pH ٣,٠ أو أقل، أما *T. thioparus* وهو أيضاً ذاتي التغذية الكيميائية حتما فهو حساس للحموضة، أما النوع القادر علي النمو في غياب O_2 وهو ميكروب *T. denitrificans* فإنه يقوم باستخدام النترات كمستقبل للإلكترونات تحت الظروف اللاهوائية، أما النوع *A. ferrooxidans* فهو يتميز بقدرته علي استخدام إما أملاح الحديدوز أو أملاح الكبريت كمصدر للطاقة، تعمل مركبات الكبريت المعدنى والكبريتيد والثيوكبريتات والتتراثيونات الرباعية والثيوسيانات كمصادر للطاقة لنوع أو أكثر من الأنواع التابعة لهذا الجنس وهي ميكروبات ذاتية التغذية كيميائية فإنها تستوفي حاجتها من الكربون اللازم للنمو من CO_2، تعتبر جميع هذه الأنواع ذاتية التغذية حتماً حيث لا يمكنها استخلاص الطاقة من أكسدة الكربون العضوى، وللتفرقة بين الأنواع الخمسة من هذه البكتريا فإنه يمكن استخدام رقم pH الأمثل للنمو في هذا الغرض، فدرجة

الحموضة المثلي لكل من *A. ferrooxidans, A. thiooxidans* عادة ما تكون حوالى pH ٢,٠-٣,٥ بينما يفضل *T. thioparus, T. denitrificans* الوسط القريب من التعادل أو حتى الوسط المائل قليلاً للقلوية.

أفـراد هـذه المجموعـة مـن الميكروبـات الهوائيـة حتمـاً فيمـا عـدا *T. denitrificans* الذي يمكنـه استخدام النترات كمستقبل نـهائى للإلكترونـات ، وهذا الميكـروب عنـد نمـوه تحـت الظـروف اللاهوائيـة يقـوم بتحويـل النتـرات إلـي مركبـات نيتروجينية غازية ويؤكسد في نفس الوقت الثيوكبريتات أو بعض المركبات الكبريتية الأخرى، بالإضافة إلي هذه الأنـواع الأساسية فإنـه يمكن أيضاً عزل سلالات محبة للحرارة العالية أو محبة للتركيزات العالية من الأملاح.

يمكن توضيح التحولات التي تقوم بها هذه الميكروبات بالمعادلات التالية:

A. thiooxidans

$$Na_2S_2O_3 + 2O_2 + H_2O \longrightarrow 2NaHSO_4 + Energy$$

T. thioparus

$$5Na_2S_2O_3 + 4O_2 + H_2O \longrightarrow 5Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 4S + Energy$$

$$Na_2S_4O_6 + Na_2CO_3 + ½O_2 \longrightarrow 2NaSO_4 + 2S + CO_2 + Energy$$

A. thiooxidans

$$2S + 3\,O_2 + 2H_2O \longrightarrow H_2SO_4 + Energy$$

T. denitrificans

$$5S + 6KNO_3 + 2H_2 \longrightarrow K_2SO_4 + 4KHSO_4 + 3N_2\uparrow + Energy$$

وتوضع تلك البكتريا تبعا لتقسيم برجى فى المجلد الثانى الذى صدر عام ٢٠٠٥ كما يلى:

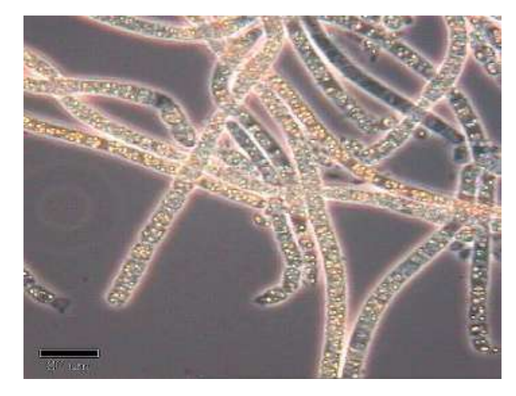
Class	Alphaproteobacteria	Gammaproteobacteria
Order	Hydrogenophilales	Acidithiobacillales
Family	Hydrogenophilaceae	Acidithiobacillaceae
Genera and Species	*Thiobacillus* *Thiobacillus thioparus* *T. denitrificans*	*Acidithiobacillus* *Acidithio. thiooxidans* *A. Ferrooxidans*

ولا تقتصر أكسدة الكبريت علي الميكروبات من جنس ***Thiobacillus*** وجنس ***Acidithiobacillus*** حيث أنه يوجد ميكروبات أخرى يمكنها القيام بنفس هذه التحولات تتبع جنس ***Sulfolobus*** وهى تؤكسد الكبريت المعدنى الموجود طبيعياً في هذه الأراضى الحمضية وتقوم بإنتاج حمض الكبريتيك عند درجات الحرارة التي تصل إلي ٥٨°م، ومما هو جدير بالذكر أن أكسدة مركبات الكبريت غير العضوية لا تقتصر علي الأنواع سابقة الذكر فقط وإنما يوجد أجناس بكتيرية أخرى تقوم بأكسدة مركبات الكبريت غير العضوية بالتربة منها جنس ***Beggiatoa*** وهو ميكروب خيطي الشكل يقوم بأكسدة H_2S كما يلي:

$$2H_2S + O_2 \longrightarrow 2S + 2H_2O + \text{Energy}$$

$$2S + 3O_2 \longrightarrow 2H_2SO_4 + \text{Energy}$$

كذلك جنس ***Thiothrix*** وهو يشبه في الشكل جنس ***Beggiatoa*** إلا أن الخلايا الطرفية للخيوط تنقسم وتكون جراثيم تعرف بالكونيديا **Conidia**.



شكل (٣-٦): بكتريا *Beggiatoa* & *Thiothrix*

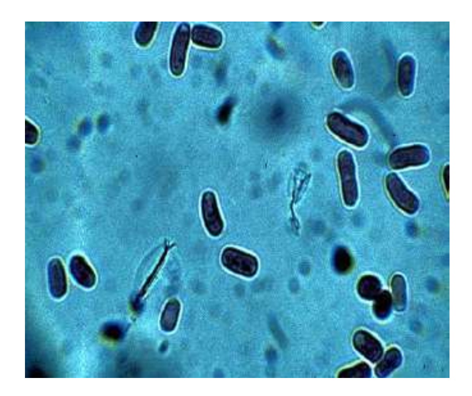
كـذلك يوجـد مجموعـة أخـرى مـن البكتريـا تعـرف بالبكتريـا الممثلـة للضـوء **Photolithotrophic bacteria** وهي بكتريا لاهوائية تحصل علي الطاقة من ضوء الشمس وتكون صبغات داخل خلاياها ومنها:

أ) بكتريا الكبريت الأرجوانية **Purple sulfur bacteria**: وهذه البكتريا تكون صبغات لونها أحمر أو أصفر ويترسب الكبريت داخل خلاياها وهى عصوية أو حلزونيـة متحركـة ومـن أهـم أجناسـها جـنس *Chromatium* حيـث يقـوم بالتفاعلات التالية:

$$2H_2S + CO_2 \longrightarrow (HCHO) + H_2O + 2S$$

$$2S + 3CO_2 \longrightarrow 2H_2SO_4 + 3HCHO$$

ب) بكتريا الكبريت الخضراء **Green sulfur bacteria**: وهذه البكتريا تكون كلورفيل بكتيري وغير متحركة – لا ترسب الكبريت داخل خلاياها ومن أهم الأجناس جنس *Chlorobium* ويقوم هذا الجنس بنفس التفاعلات المذكورة سابقاً.



شكل (٣-٧): بكتريا ***Chromatium*** **&** ***Chlorobium***

أيضاً تقوم البكتريا غير ذاتية التغذية والأكتينوميسيتات والفطريات أيضا بأكسدة مركبات الكبريت غير العضوية، ومن المعروف أن هذه الميكروبات لا تحصل علي الطاقة من هذه الأكسدة لأن هذه التحولات تحدث بصفة عارضة في المسارات الرئيسية لعمليات التمثيل الغذائى ، فتقوم مثلا أنواع تتبع أجناس *Arthrobacter, Bacillus, Flavobacterium, Pseudomonas* بتحويل الكبريت المعدنى أو الثيوكبريتات إلي كبريتات، بينما تقوم أنواع من جنس *Streptomyces* بإنتاج الثيوكبريتات من الكبريت المعدنى، تقوم الفطريات الخيطية والخمائر بأكسدة حبيبات الكبريت الناعمة، كما تقوم كثير من البكتريا غير ذاتية التغذية في وجود العناصر الغذائية العضوية بتحويل الثيوكبريتات إلي تتراثيونات رباعية، وكقاعدة عامة فإن مثل هذه التفاعلات تكون بطيئة عن مثيلاتها التي تقوم بها بكتريا الكبريت العصوية، تقوم الفطريات الخيطية بإنتاج الكبريتات من بعض المركبات العضوية مثل السيستين والثيويوريا والميثيونين والتيروزين، والأنواع النشطة في هذا المجال تمثلها أجناس *Microsporum, Penicillium, Aspergillus* .

قد يكون لبكتريا الكبريت أهمية كبيرة من الناحية الزراعية من عدة نواحى خلاف دورها المحتمل في تكوين الكبريتات اللازمة لتغذية النبات، فنشاط هذه الميكروبات يعمل علي تغيير حموضة التربة مما يؤدي إلي الإقلال من الإصابة بأمراض جرب البطاطس أو تعفن البطاطا أو يؤدي إلي خفض حدة الإصابة بالمرض.

وتتسبب أكتينوبكتريا حساسة للحموضة في هذه الأمراض وهي *Streptomyces scabies* الذي يسبب جرب البطاطس و *Streptomyces ipomoeae* المسبب لتعفن البطاطا.

وتقل حدة الإصابة بالمرض عند pH أقل من ٥,٠ تقريباً، وعلي ذلك فإنه يمكن التحكم في المرض بإضافة الكبريت بكميات كافية لإحداث التفاعل إلى الدرجة اللازمة للوصول إلي مستوى الحموضة المحدد لانتشار المرض، والتحكم في مثل هذه الأمراض الناشئة بفعل الإستربتوميسيتات يكون عن طريق حمض الكبريتيك الذي تكونه بكتريا الكبريت العضوية ويستخدم الكبريت أيضا في إصلاح الأراضى القلوية بطريقة مشابهة، تتسبب أكسدة الكبريت المعدنى في إذابة معادن التربة حيث يتفاعل حمض الكبريتيك المتكون مع هذه المعادن والمواد الأخرى غير الذائبة مما يعمل علي توفير العناصر الغذائية.

الأسمدة الحيوية Biofertilizers

منذ أن بدأ التعرف في بداية هذا القرن علي الدور الذي تلعبه بكتريا العقد الجذرية في زيادة إنتاجية المحاصيل من خلال تثبيتها للأزوت الجوي في العقد الجذرية للنباتات البقولية، اتجهت الأنظار إلي الاستفادة من أنشطة أحياء التربة الدقيقة كوسيلة لمد النباتات النامية ببعض احتياجاتها الغذائية، ومن هنا بدأ استخدام اصطلاح التسميد الحيوي الذي يقصد به كل الإضافات ذات الأصل الحيوي التي تمد النبات النامي باحتياجاته الغذائية، وإذا تضمنت هذه الإضافات أحياء دقيقة فإنها يمن أن تسمي أيضا باللقاحات الميكروبية **Microbial inoculants**.

تعتبر الأسمدة الحيوية مصادر غذائية للنبات رخيصة الثمن جدًا إذا ما قورنت بالأسمدة المعدنية، حيث تشير الإحصائيات إلي أن إنتاج الغذاء في العالم يعتمد علي الأسمدة الكيميائية النيتروجينية الاحتياجات من الأسمدة النيتروجينية وصلت إلي ١٦٠ مليون طن ولقد ارتفع معدل استهلاك الأسمدة الكيماوية بأنواعها المختلفة في الدول النامية نتيجة ارتفاع معدل زيادة السكان وبالتالى ازدياد الحاجة إلي المنتجات الغذائية واتجاه هذه الدول إلي التوسع الأفقي والرأسى في الزراعة،

ويتطلب استيراد هذه الأسمدة عملة صعبة يمثل توفيرها ضغطا علي الاقتصاد القومي كما أنه يقلل من المكاسب المتحصل عليها من الصادرات وحتى بعد استيراد هذه الأسمدة فإن الحكومة تقوم بدعمها لتوزيعها بأسعار في متناول أيدي المزارعين في الحيازات الزراعية المختلفة وهذا الدعم المادي يمثل عبئا أخر علي الاقتصاد القومي لاسيما وأنه يتزايد عاما بعد أخر، وإن كان ذلك هو الوضع في مصر فإنه يعتبر أفضل عما هو موجود في عديد من الدول الأخرى التي لا تملك الطاقات المادية لإنشاء مصانع أسمدة أو استيراد الأسمدة الكيماوية ومن المتوقع أن تتفاقم مشكلة توفير الأسمدة الكيميائية في المستقبل نظرا لانخفاض إمدادات الغاز الطبيعي اللازم لتصنيع الأسمدة الأزوتية بل ونقص مصادر الطاقة بصورة عامة علي مستوي العالم مما سينتج عنه ارتفاع في أسعار الأسمدة، يضاف إلي ما سبق المشاكل المتعلقة بتلوث البيئة والناجمة عن الاستخدام المكثف للأسمدة الكيماوية وخاصة الأسمدة الأزوتية والتي سبق الإشارة إليها.

وفي مقابل ذلك فإن الأسمدة الحيوية المحضرة من الكائنات الحية الدقيقة يتم تجهيزها بأساليب بسيطة غير مكلفة تبدأ بانتخاب الميكروب ذو الكفاءة ثم إكثاره في مزارع ملائمة ثم نقل النمو إلي حامل مناسب حيث يحفظ تحت ظروف ملائمة لحين استعماله كلقاح للبذور أو التربة ولا يتعدي سعر كيس اللقاح الذي يكفي لتلقيح كمية البذور اللازمة للفدان ١٠ جنيهات في حين تستطيع البكتريا المستخدمة إذا كانت من الأنواع المثبتة للأزوت بصورة حرة أن توفر ٥٠٪ من الاحتياجات الأزوتية للعائل النامي وتصل إلي ٧٥٪ في حالة البكتريا العقدية.

ميكانيكيات تأثير الأسمدة الحيوية

السماد الحيوي	ميكانيكية التأثير
١- بكتريا العقد الجذرية *Frankia ,Rhizobium*	تثبيت أزوت الهواء الجوي -إنتاج منشطات النمو
٢- البكتريا المثبتة للأزوت بصورة حرة *Azotobacter, Azospirillum*	تثبيت أزوت الهواء الجوي-إنتاج منشطات النمو - الحماية من المسببات المرضية
٣- البكتريا الخضراء المزرقة (السيانوبكتريا)	تثبيت أزوت الهواء الجوي -إنتاج منشطات النمو
٤- الأزولا	تثبيت أزوت الهواء الجوي
٥- مذيبات الفوسفات البكتيرية	إنتاج أحماض عضوية- إنتاج منشطات النمو- الحماية من المسببات المرضية
٦- فطريات الميكوريزا	زيادة امتصاص العناصر الغذائية خاصة الفوسفات -زيادة المقاومة للجفاف- الحماية من المسببات المرضية
٧- بكتريا السليكات	إنتاج أحماض عضوية
٨- بكتريا السيدوموناس	إنتاج مخلبيات الحديد
٩- الخميرة	إنتاج منشطات النمو

وعموماً فإن نجاح السماد الحيوي في تحقيق الفائدة المرجوة منه يعتمد علي عدة عوامل هي:

١- كفاءة الميكروب المستخدم.

٢- مدى توافق الكائن الحي مع العائل النباتي وقد ثبت تجريبيا أن هذا التوافق يمكن أن يتباين حتى علي مستوى سلالة الكائن وصنف النبات.

٣- القدرة التنافسية للكائنات المماثلة والموجودة بصورة طبيعية في التربة.

٤- أعداد الكائن الحي في المنطقة المحيطة بجذور العائل وقدرتها علي البقاء ومن أمثلة الأسمدة الحيوية ذات الأهمية الاقتصادية الكبيرة:

١- لقاحات الريزوبيا المستخدمة للبقوليات والتي بدأ تسويقها منذ سنوات طويلة علي نطاق تجارى في بلاد عديدة ، وأصبحت في الخمسين سنة الأخيرة تستعمل كلقاحات للتربة أو للبذور في أغلب بلاد العالم (عقدين أو نوديولين **Nodulin**).

٢- لقاحات *Azotobacter* *Azospirillum,* مثل **Microbeen,** **Rhizobacterin, Cerealin** والتي تخلط بالحبوب لتمد العوائل النجيلية ببعض احتياجاتها من النيتروجين من خلال تثبيت النيتروجين لاتكافلياً.

٣- في الأراضى الغدقة المنزرعة أرز فإن الميكروبات المثبتة للأزوت الممثلة للضوء مثل الطحالب الخضراء المزرقة تساهم في إمداد نبات الأرز بجزء كبر من احتياجاته الأزوتية، بالإضافة إلي ما تفرزه من مواد منشطة للنمو، لذلك فإن إنتاج لقاحات من الطحالب الخضراء المزرقة لاستخدامها كلقاح بالأرض المنزرعة أرزا أصبح يتم الأن علي نطاق تجارى كبير.

٤- في السنوات الأخيرة تأكد الدور الهام الذي تلعبه الأزولا في مزارع الأرز من حيث تثبيت الأزوت وكسماد عضوي للتربة، وأصبحت الأزولا الأن تنمي في مزارع مائية مناسبة لاستخدامها كلقاح في مزارع الأرز كما يمكن تنميتها في مزارع الأرز بعد عملية الشتل.

٥- لقاحات الكائنات التي لها دور هام في تيسير فوسفات التربة للنبات ، وبذلك تمده باحتياجاته الفوسفورية ومن هذه اللقاحات:

أ- لقاح فطريات الميكروزا الذي يفيد الكثير من المحاصيل خاصة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية التي تعاني تربتها من زيادة تثبيت الفوسفات بها، بالإضافة إلي أن الحرارة العالية تساعد علي زيادة نشاط اللقاح الفطرى وذلك عن أراضى المناطق المعتدلة أو الباردة.

ب- المنتج المسمى Phosphobacterin (يسمى الأن فوسفورين) المحتوي علي بكتريا *Bacillus megaterium var. phosphaticum* ذو الكفاءة العالية في إذابة الفوسفات غير الذائبة بالتربة، ويستعمل هذا اللقاح بكثرة في الاتحاد السوفيتي وبلدان أوروبا الشرقية لزيادة تيسير الفوسفات بالتربة الزراعية.

يوجد لقاحات ثبت فعاليتها علي المستوي التطبيقي ولكنها غير متوفرة في مصر مثل لقاح الأزولا الذي يستخدم علي نطاق واسع في مزارع الأرز في الصين وفيتنام ودول جنوب شرق أسيا كذلك استطاع الباحثون في الولايات المتحدة الأمريكية إنتاج لقاح فعال للميكوريزا المكونة للأوعية والتفرعات الشجيرية باستخدام الـ Aeroponic system وإن كان لم يعمم استخدامه بعد، وفي فرنسا استطاع الباحثون من إنتاج لقاح للفرانكيا محملا علي ألجينات الصوديوم وجارى في الوقت الحالي الإعداد لإنتاج هذا اللقاح بمصر ومن ناحية أخرى فإن هناك بعض اللقاحات التي مازالت فعاليتها محل نقاش كلقاحات البكتريا المثبتة للأزوت بصورة حرة ومذيبات الفوسفات وبكتريا السليكات وإن كان العديد من التجارب الحقلية قد أثبتت فعالية البكتريا المثبتة للأزوت بصورة حرة تحت الظروف المصرية.

الفوائد التى تتحقق من استخدام الأسمدة الحيوية

١. تقليل الاعتماد علي الأسمدة الكيماوية وبالتالى يحدث انخفاض في تكاليف الإنتاج.

٢. إضافة المخصبات الحيوية يؤدي إلي تيسير العناصر الغذائية وخصوصاً الفوسفور والعناصر الصغري.

٣. زيادة محتوي الأرض من المادة العضوية.

٤. تحسين امتصاص الماء والعناصر الغذائية.

٥.تحسين خواص التربة من خلال تشجيع عملية الـ **Aggregation**.

٦.الإسراع من إنبات البذور.

٧.إنتاج بعض الإنزيمات بواسطة الميكروبات المضافة والتى تقوم بدور هام في تحليل المواد العضوية.

٨.إنتاج بعض منشطات النمو بواسطة الميكروبات المضافة .

٩.إنتاج بعض المركبات المخلبية والتى تزيد من تيسر معظم العناصر الصغري.

١٠.الحد من تلوث البيئة الذى ينتج من الاستخدام المكثف للأسمدة المعدنية.

١١.زيادة إنتاجية المحاصيل حيث تتراوح هذه الزيادة من ١٠-٣٠٪.

١٢.إفراز مواد مضادة لبعض الفطريات أو البكتريا الممرضة والتى تتواجد في منطقة الريزوسفير.

١٣.تساهم بدور فعال في تكوين الدبال.

١٤.يستطيع مثل هذه الميكروبات تحليل بقايا بعض المواد السامة مثل المبيدات.

١٥.إنتاج غذاء عالي الجودة والقيمة الغذائية.

التحولات الميكروبية للحديد Biotransformation of iron

علي الرغم من أن الحديد يعتبر أحد العناصر الغذائية الصغري بالنسبة لنمو معظم الأحياء الدقيقة في التربة إلا أن هذا العنصر يتم تحويله بسرعة عن طريق النشاط الميكروبى، ويتوفر الحديد دائماً في الأراضى حيث إنه أحد المكونات الرئيسية للقشرة الأرضية ، ومع ذلك فإنه غالبا ما يوجد في صورة غير ميسرة للنبات.

تعمل الكائنات الحية الدقيقة في مجال تحولات الحديد بعدة طرق تختلف عن بعضها تماماً، والصورة التي يوجد عليها هذا العنصر يحددها عدد من العوامل الحيوية المختلفة ومن أهم العمليات البيولوجية التى تحدث لمركبات الحديد ما يلي:

(أ) بعض الأنواع من البكتريا لها القدرة علي أكسدة مركبات الحديدوز إلي حديديك التي تترسب في صورة أيدروكسيد الحديديك.

(ب) كثير من الأنواع غير ذاتية التغذية تهاجم أملاح الحديد العضوية الذائبة وتحولها إلي صور غير عضوية قليلة الذوبان فتترسب في محلول التربة.

(جـ) تقوم الكائنات الدقيقة بتغيير جهد الأكسدة والاختزال في محيط وجودها، ويؤدي انخفاض جهد الأكسدة والاختزال الناشئ عن النمو الميكروبى إلي تحويل أيونات الحديديك غير الذائبة إلي حد بعيد إلي مركبات الحديدوز الأكثر ذوباناً.

(د) تقوم أعداد لا حصر لها من البكتريا والفطريات بإنتاج الأحماض مثل الكربونيك والنيتريك والكبريتيك بالإضافة إلي الأحماض العضوية وهذه جميعها تؤدي إلي زيادة الحموضة التي تعمل علي تحويل الحديد إلي صورة ذائبة.

(هـ) تحت الظروف اللاهوائية يمكن أن يعمل الكبريتيد المتكون من الكبريتات أو من مركبات الكبريت العضوية علي إزالة الحديد من المحاليل بترسيبه علي صورة كبريتيد حديدوز.

(و) كثيراً ما يتسبب إنتاج الكائنات الدقيقة لبعض الأحماض العضوية ونواتج التمثيل الغذائى الكربونية الأخرى في تكوين مركبات حديد عضوية ذائبة.

أكسدة الحديدوز بواسطة الميكروبات

Ferrous oxidation by microorganisms

يعتبر ميكروب *Acidithiobacillus ferrooxidans* قادر على إنتاج الحديد من خام الكبريتيد بالطرق الحيوية، وتعتبر قدرة هذه البكتريا علي أكسدة أملاح الحديدوز عند pH 3.5 في غياب المواد العضوية دليلا واضحا علي التغذية غير الذاتية لهذا الميكروب، وهي ظاهرة يندر إثباتها في كثير من الكائنات الحية الدقيقة التي تتكون علي أسطح خلاياها ترسيبات من أملاح الحديديك عند النمو في محاليل ذات pH متعادل. فعند درجة الحموضة القريبة من التعادل تصبح أملاح الحديدوز قابلة للأكسدة بالطرق غير الحيوية وقد تترسب علي خلايا الميكروبات، وتتم أكسدة أملاح الحديدوز بواسطة *A. ferrooxidans* الذاتي التغذية الكيميائية عند رقم pH يتراوح ما بين 2.0 – 4.5 وتكون الدرجة المثلي في حدود 2.5 – 3.5 pH تقريبا، وأن هذا المدي من درجات الحموضة يدل علي أن نشاط الميكروب يقتصر علي الأراضي الحمضية فقط، وتختلف سلالات هذا الميكروب في النطاق الملائم من درجات الحموضة وأيضا في درجة الحموضة المثلي لنشاطها، إلا أنها جميعاً يقتصر وجودها علي الظروف الحمضية.

وفيما يلي التقسيم العلمي لميكروب*Acidithiobacillus ferrooxidans*

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Acidithiobacillia

Order:Acidithiobacillales

Family:Acidithiobacillaceae

Genus:*Acidithiobacillus*

Species:*Acidithiobacillus ferrooxidans*



شكل (٣-٨): بكتريا ***Acidithiobacillus ferrooxidans***

يمكن تصوير التفاعل المنتج للطاقة اللازمة لنمو *A. ferrooxidans* بعدة طرق، فهي تحصل علي الطاقة عن طريق عمليات هوائية يتأكسد فهيا الحديدوز إلي حديديك.

$$4Fe^{++} + O_2 + 4H^+ \longrightarrow 4Fe^{+3} + 2H_2O$$

حديدوز حديديك

وبذلك يمكن أن يكون الناتج الرئيسي هو كبريتات الحديديك، وأحيانا ما تكتب المعادلة التي تمثل إنتاج الطاقة بحيث تتضمن وجود هذا الجزئ.

$$4FeSO_4 + O_2 + 2H_2SO_4 \longrightarrow 2Fe_2(SO_4)_3 + 2H_2O$$

وغالباً ما تغلف خلية الميكروب بأيدروكسيد الحديديك وأنه من المحتمل أن ينشأ ذلك من تفاعلات غير حيوية يمكن لهذه البكتريا أن تنمو وتستخلص الطاقة من أكسدة الحديدوز، وكما يدل اسم الجنس لهذا الميكروب فإنه يقوم بأكسدة الكبريت غير العضوي، ويمكن لكثير من سلالاته استخدام الكبريتيد والكبريت والثيوكبريتات، وبالفعل فإن هذا الميكروب ذاتي التغذية لذلك فإنه غالبا ما يكون له القدرة علي أكسدة كل من أيونات الحديدوز والكبريتيد.

وتشارك الكائنات غير ذاتية التغذية أيضا في ترسيب أملاح الحديديك، ولكنه من غير الواضح تماما ما إذا كان التفاعل الذي يؤدي إلي ظهور الحديديك في مثل

هذه الحالات هو تفاعل إنزيمي أم لا، قد تستخدم الكائنات غير ذاتية التغذية كمية قليلة فقط من الطاقة الناتجة عن الأكسدة أو قد لا تستخدمها علي الإطلاق.

$$Fe_2(SO_4)_3 + 6H_2O \longrightarrow 2Fe(OH)_3 + 3H_2SO_4$$

تحلل مركبات الحديد العضوية

Degradation of organic iron compounds

تعتبر عملية ترسيب الحديد الموجود في عدد من المركبات العضوية الذائبة في الماء أكثر الوسائل أهمية في مجال التحولات المؤدية إلي تغيير الصورة الميسرة من هذا العنصر. فالجزء العضوي من الجزئ يعمل علي إمداد الميكروبات بالطاقة اللازمة لنموها، وعند انتهاء تحلل الشق العضوي من المركب ينفرد الحديد ويترسب في صورة أملاح الحديديك غير الذائبة، لهذا فإن ترسيب هذا العنصر ينتج بصورة مباشرة بفعل الميكروبات علي الجزء العضوي من المركب أكثر منه بفعلها علي الحديد الموجود داخله.

والميكروبات المسئولة عن العملية وهي أساساً البكتريا واسعة الانتشار في التربة فهناك الكثير من السلالات التي تتبع مختلف الأجناس التي يمكنها بهذه الوسيلة إزالة الحديد من محلول التربة عن طريق مهاجمتها للشق العضوي من الأملاح، والميكروبات النشطة في ذلك هي بعض الأنواع من أجناس البكتريا *Pseudomonas, Bacillus, Serratia, Acinetobacter, Klebsiella, Mycobacterium, Corynebacterium* وكذا عدد من الفطريات الخيطية وأنواع من جنسى *Nocardia, Streptomyces*.

اختزال الحديد Reduction of iron

توجد معظم كميات الحديد في الأراضي الجيدة الصرف في صورة مركبات علي درجة عالية من الأكسدة، فلا يوجد سوي كميات صغيرة فقط من أيونات الحديدوز، وعند تشبع التربة بالماء أو تحولها بوسيلة أخرى إلي الظروف اللاهوائية فإن محتواها من الحديدوز يرتفع بسرعة ويكون ذلك راجعاً بأكمله إلي تأثير العوامل

الحيوية، حيث إنه في حالة تعقيم الأراضي المشبعة بالماء لا يحدث مثل هذا التغيير علي الإطلاق أو قد يحدث مجرد تغير طفيف فقط.

يوجد عدة طرق تؤدي إلي الاختزال الميكروبي لأملاح الحديديك وأحداث الأثر المنشط لوجود المواد القابلة للتخمر، فتكون زيادة الحموضة المصاحبة لعمليات التخمير مناسبة لتحول الحديد، أضف إلي ذلك أن نقص الأكسجين نتيجة عمليات التمثيل الغذائي الميكروبي تعمل علي خفض رقم Eh الوسط مما يؤدي إلي اختزال الحديديك، ومن المحتمل وجود طريقة أخرى لإحداث مثل هذا التحول وهي التفاعل المباشر لنواتج التخمر مع أيدروكسيدات أو أكسيد الحديد، كما يمكن من ناحية أخرى أن ينشأ الاختزال عن طريق انتقال الإلكترونات فيعمل الحديد كمستقبل للإلكترونات أثناء تنفس الخلية الميكروبية بطريقة تماثل ما يحدث عند اختزال النترات بواسطة بكتريا انطلاق النيتروجين.

يقوم كثير من البكتريا بتحويل جزء من $Fe(OH)_3$ أو أكسيد الحديديك المضاف إلي البيئات الغذائية العضوية إلي صورة ذائبة في المحلول وذلك عند النمو في وجود تركيز أقل من المستوى الأمثل من الأكسجين، ولا تعتبر مثل هذه التحولات التي ينتج عنها إنتاج الحديدوز ميزة مقصورة علي جنس معين من الميكروبات، بل هي شائعة في أنواع متباينة من الميكروبات، تتراوح أعداد البكتريا التي لها القدرة علي الاختزال النشط للحديد ما بين 10^4 - 10^5 في الجرام وأحيانا ما تصل إلي 10^6 في الجرام، وأن نسبة عالية قد تصل إلي ١٠٪ من المجموعات البكتيرية النامية علي أطباق الأجار المحضرة من تخفيفات التربة تشارك في عملية الاختزال.

من الأجناس التي تشتمل علي أنواع قادرة علي تحويل الحديديك إلي حديدوز *Bacillus, Clostridium, Klebsiella, Pseudomonas, Serratia* تقوم بعض الأنواع بإنتاج الحديد ثنائى التكافؤ وذلك عندما تصل الحموضة إلي درجة معينة في المنبت الغذائى، ولذلك فإن pH الوسط علي الأقل في مثل هذه الحالة يحتمل أن يكون هو المسئول عن عملية التحول، وفي البعض الأخر من الميكروبات لا تحدث زيادة في درجة الحموضة وبذلك تكون هناك وسيلة أخرى غير الحموضة هي التي تعمل علي الاختزال، وبالنسبة لبعض الميكروبات الهوائية كما في حالة

Fusarium oxysporum فإن وجود أملاح الحديديك قد يسمح بحدوث بعض النمو في غياب الأكسجين ومن أهم البكتريا التى لها القدرة علي اختزال الحديد ما يلي:

Bacillus circulans, Enterobacter aerogenes **and** ***Escherichia freundii.***

يبدو أن تحول الحديد الثلاثى التكافؤ إلي الحالة الثنائية التكافؤ ينشأ عن فعل الإنزيمات، وذلك علي الأقل في حالة بعض الأنواع غير ذاتية التغذية حيث تعمل أيونات الحديديك كمستقبل للالكترون في علمية التنفس، فقد يحل الكاتيون الثلاثى التكافؤ محل الأكسجين في عمليات التمثيل الغذائى الخلوى عندما لا يتيسر وجود الأكسجين، يعمل وجود النترات في المزارع علي تثبيط القدرة علي اختزال الحديد لكثير من الأنواع النشطة، وذلك بالإضافة إلي أن كثيراً من الأنواع المختزلة لأيونات الحديديك وليست جميعها، تستطيع أيضاً تحويل النترات إلي نيتريت وعلي هذا الأساس فقد أصبح من المسلم به أن الاختزال الإنزيمي للحديد يتم بإحدي طريقتين:

(أ) يحدث الاختزال في حالة بعض الأنواع غير ذاتية التغذية عن طريق نفس الإنزيم المختص بإنتاج النيتريت من النيترات وهو إنزيم Nitrate reductase .

(ب) أن تتضمن عملية التحول وجود أحد الإنزيمات التي لا تعمل في عمليات تمثيل النترات.

هناك إحدي الظواهر التي يحتمل أن يرتبط وجودها بعمليات التمثيل الغذائي الميكروبي للحديد وهي تعرف بظاهرة Gleying ، فالأماكن التي تظهر فيها في قطاع التربة تكون لزجة ذات لون رمادى أو أزرق مخضر فاتح وذات رائحة كريهة، وهي تحدث عندما يرتفع مستوى الماء الأرضي ويرتبط وجود مثل هذه الأفاق بصفة خاصة بالأماكن الغدقة، ويعزي وجود هذه الظاهرة إلي إنتاج كبريتيد الحديدوز FeS تحت الظروف اللاهوائية نتيجة تفاعل الحديد مع نواتج التمثيل الغذائي للاختزال الميكروبي للكبريتات، وفي النماذج المعملية المصممة لمحاكاة هذه الظواهر يتم تحضين خليط من تربة طينية ومحلول من السكر تحت الظروف اللاهوائية نتيجة

تفاعل الحديد مع نواتج التمثيل الغذائي للاختزال الميكروبي للكبريتات، وفي النماذج المعملية المصممة لمحاكاة هذه الظواهر يتم تحضين خليط من تربة طينية ومحلول من السكر تحت ظروف لاهوائية بدرجة جزئية أو كلية، ونتيجة نشاط البكتريا يحدث قصر في لون الطين مع ظهور الحديد في المحلول المتخمر ويختلف لون الطين من تربة لأخرى فأحيانا ما يكون أبيض أو رمادياً أو بنياً، في الأراضي المعاملة بالجلوكوز مع غمرها بالماء فإن معدل اختفاء السكر ومعدل تكوين الحديدوز يتبع كلاهما منحني يماثل المنحني الخاص بالنمو البكتيري وتحدث أعلي معدلات لكل من هاتين العمليتين في نفس الوقت، وهذا يشير إلي أن البكتيريا هي العامل المسئول عن حدوث ظاهرة **Gleying** ، وبالفعل فإن الطين في هذه الحالة يحتوي علي أعداد كبيرة من البكتريا المختزلة للحديد قد تصل إلي 10^7 في الجرام، وفي مثل هذه المواقع التي تمت دراستها وجد أن الأنواع السائدة من البكتريا الهوائية أو اللاهوائية اختياراً المختزلة للحديد تتبع جنسى ***Bacillus, Pseudomonas*** .

هناك عملية حيوية أخرى هامة بالنسبة لتحولات الحديد يمكن أن تحدث في غياب الأكسجين وهي إنتاج الكبريتيد أما من خلال معدنة كبريتات مركبات الكبريت العضوية أو عن طريق اختزال الكبريتات، الكائنات الحية الدقيقة المنتجة لكبريتيد الأيدروجين تعمل علي ترسيب الحديد في صورة كبريتيد الحديدوز بتفاعل كبريتيد الأيدروجين مع أملاح الحديد، ويمكن تمييز الميكروبات المسئولة عن ذلك بسهولة عند نموها علي بيئات الأجار الغذائية المحتوية علي لاكتات الحديد وكبريتات الأمونيوم حيث تكون المجموعات النامية محاطة بهالة داكنة من **FeS** ، كما يترسب الحديد أيضاً في البيئات الغذائية الغنية بالحديد نتيجة انطلاق الأيدروجين بفعل الميكروبات أثناء تحلل البروتين أو الجزيئات الأخرى المحتوية علي الكبريت.

تتعرض المواد المصنوعة من الحديد أو الصلب للتأكل تحت ظروف نقص الأكسجين، ويمكن أن تصل حدة التأكل إلي الدرجة التي تصبح معها المواسير الحديدية عديمة الفائدة بعد سنوات قليلة، والخسائر الاقتصادية الناجمة عن تلف المواسير المدفونة في باطن الأرض قد تصل إلي مئات الملايين من الدولارات سنوياً، ويرجع جزء علي الأقل من التلف لتأثير الكائنات الحية الدقيقة وتزداد حدة التأكل

علي وجه الخصوص في الأراضي السيئة الصرف حيث تظل التربة رطبة لفترات طويلة. أضف إلي ذلك أن هناك علاقة مباشرة بين جهد الأكسدة والاختزال وحدوث التلف وشدة تأكل المواسير الحديدية تحت الظروف اللاهوائية ولا يظهر مثل هذا التأكل في الأراضي التي يصل جهد الأكسدة والاختزال فيها إلي Eh أكثر من 400 mv ، وعادة ما يكون التلف قليلا عند 400–200 mv ومتوسطاً عند –100 200mv ، بينما تزداد حدة التلف دائما في الأوساط البيئية ذات جهد الأكسدة والاختزال الأقل من 100mv.

مما لا شك فيه أن التأثير يرجع إلي فعل مجموعات البكتريا من جنس *Desulfovibrio* المختزلة للكبريتات وهي التي تعمل علي إحداث تحولات في عنصر الحديد بترسيبه في صورة كبريتيد الحديدوز، ولما كانت هذه البكتريا من الأنواع اللاهوائية حتماً والتي تستخدم الكبريتات عند نموها كمستقبل للإلكترون، فإنه يصبح من الواضح أهمية وجود الكبريتات وانخفاض رقم Eh الوسط والظروف اللاهوائية في إحداث التغيرات.

ويعتبر مدى الحموضة المناسب لنشاط هذه البكتريا مساوياً لنفس رقم الأس الأيدروجيني الملائم لتأكل الحديد وهو حوالى pH 5.5 أو أكثر والنتيجة النهائية للتفاعل يمكن توضيحها بالمعادلة التالية:

$$4Fe + SO_4^{=} + 4H_2O \longrightarrow FeS + 3Fe(OH)_2 + 2OH$$

حيث يتكون كبريتيد الحديدوز وأيدروكسيد الحديدوز كنواتج للتفاعل.

دور ميكروبات التربة في التخلص من بقايا مبيدات الأفات

منذ أن اكتشف تأثير المبيد الحشري DDT عام ١٩٣٩ وما تبعه من معرفة تأثير الـ 2,4-D كمبيد للحشائش، فقد بدأ استخدام الكيماويات للوقاية من الأفات بهدف زيادة الغلة الزراعية، ومع انتشار استخدام هذه المركبات اكتشف أن لها بعض التأثيرات الضارة علي الإنسان والحيوان والنبات والكائنات الدقيقة والوسط البيئي.

Cl
Cl Cl
Cl Cl

شكل(٣ – ٩):التركيب البنائى لمبيد DDT

وبسبب تزايد استعمال المبيدات في الزراعة الحديثة بشكل كبير لمكافحة مختلف الأفات، بدأ العلماء المشتغلين بميكروبيولوجيا الأراضى ينظرون بقلق إلي هذه المواد السامة خوفاً من أثارها الضارة علي أحياء التربة، وما لهذا من انعكاس ضار علي العمليات الحيوية الهامة المرتبطة بخصوبة التربة، لذلك فلقد بدأت الدراسات تتوسع في هذا الموضوع وتتوالى لمحاولة دراسة الموضوع من جميع نواحيه، والعلاقة التي تربط ما بين المبيدات وكائنات التربة الدقيقة ذات اتجاهين:

الاتجاه الأول هو: أن الميكروبات قد تتأثر تأثرا ضارا بهذه المبيدات ، وهذا يؤثر علي العمليات الحيوية التي تحدث بالتربة.

الاتجاه الثاني هو: أن الميكروبات قد تؤثر علي المبيدات وتحللها و يترتب علي هذا التحلل حدوث معدنة Mineralization للمبيدات أو فقد لسميتها Detoxification أو تنشيط.

وتصل مبيدات الأفات إلي التربة بأكثر من طريق فمنها ما يضاف مباشرة علي سطح التربة، أو يحقن في طبقاتها العليا، ومنها ما يستعمل رشاً علي المجموع

الخضري ويصل إلي التربة مما يتساقط أثناء الرش أو مع الأوراق التي تتساقط أو النباتات التي تموت بالإضافة إلي أن مياه الرى تتلوث بتلك المبيدات وتنقلها إلي الحقول المجاورة.

وعلي العموم فإن طول مدة بقاء المبيد من الموضوعات الهامة التي لها قيمة تطبيقية كبيرة، حيث وجد أن المبيدات تختلف كثيرًا في معدل تحللها فبعضها سريع التحلل وبعضها بطئ والبعض يقع في مستوي وسط. وسرعة التحلل البيولوجي للمبيد قد تكون مرغوبة في ظروف معينة وغير مرغوبة في ظروف أخرى، فعلي سبيل المثال فإنه إذا فرض إننا استخدمنها مبيدا للحشائش وكان هذا المبيد شديد المقاومة للتحلل، فإن وجوده في الأرض لمدة طويلة بدون تحلل سوف يكون له أثارا سيئة وبقاء المبيدات في الأرض لمدة طويلة بعد إضافتها يجعل من الممكن للنباتات والأعلاف الحيوانية التي تنمو في هذه الأرض أن تمتص كميات من هذه المبيدات وتتراكم داخلها مما قد يكون له أثار صحية غير محمودة علي من يتناول هذه النباتات وهذه النقطة قد أعطاها المشتغلون بتلوث البيئة أهمية كبيرة.

ولقد جاء في إحصائيات منظمة الصحة العالمية لعام ٢٠١٨م ما يفيد بأن أكثر نصف مليون شخص علي الأقل يصابون في العالم سنويا بالتسمم بالمبيدات المستخدمة في مقاومة الأفات النباتية ويموت منهم عدة ألاف.

ويجب أيضاً أن لا يغيب عن الأذهان الأثار الخطيرة لتلوث البيئة، سواء أكانت الترع أو المصارف أو الأرض أو الهواء بهذه المبيدات المقاومة للتحلل التي تبقى أثار التلوث بها لمدة طويلة. وهناك أحوال يكون من المفيد فيها أن يكون المبيد مقاوما للتحلل لحد كبير، مثل الظروف التي يراد فيها التخلص من النمو النباتي للحشائش لمدة طويلة في المناطق التي تقام فيها مشروعات تعيق هذه النباتات العمليات الإنشائية فيها، وفي أحوال أخرى قد يكون من المرغوب أن يكون للمبيد مقاومة معقولة للتحلل في حالة مقاومة بعض الأفات والتي يراد فيها أن يبقى المبيد مدة في الأرض حيث يضمن التخلص من الأفة.

ولقد أصبح من المهم للمحافظة علي البيئة من التلوث دراسة الأثار الجانبية لاستخدام المبيدات ومدى مقاومتها للتحلل قبل دخول المبيد في التطبيق العملي

الزراعي، وذلك حتى يمكن تلافي الأثار السيئة بإجراء تحويرات في البناء الكيماوي للمبيد تجعله أكثر قابلية للتحلل الميكروبي، ومثل هذه التحويرات ليست صعبة الإجراء ويمكن عملها بدون تقليل الأثر السيئ للمبيد علي الآفة التي أنتج من أجلها.

ونظرا لأن مجموعة المبيدات التابعة لقسم الهيدروكربونات الكلورنية مثل DDT والجامكسان أبطأ في التحلل بالتربة من المبيدات التابعة لمجموعة المركبات الفوسفورية العضوية مثل السيترولين والدورسبان، فقد قل استعمال المبيدات التابعة للمجموعة الأولى وزاد استعمال المبيدات التابعة للمجموعة الثانية السهلة التحلل في الأراضى والمياه، وعموماً فقد يعزي أسباب مقاومة بعض المبيدات للتحلل البيولوجي بالنقاط التالية :

١- غياب الإنزيمات القادرة علي إحداث تغيرات في المجموعة الكيميائية التي يتبعها المبيد.

٢- قد تكون الإنزيمات القادرة علي تحليل هذه المجموعة الكيميائية موجودة ولكن وجود تحوير في تركيب جزئ المبيد يجعله غير قابل للنفاذ خلال جدر خلايا الميكروب الذي يوجد فيه الإنزيم.

٣- قد تكون الميكروبات القادرة علي تحليل المجموعة الكيميائية التي يتبعها المبيد موجودة فعلا ولكن وجود تحوير في جزئ المبيد يجعله غير قابل للتحليل الإنزيمي، أو قد يكون المبيد المحور مثبطا للإنزيمات القادرة علي تحليل المجموعة الكيماوية التي يتبعها هذا المبيد.

وبغض النظر عن اختلاف المبيدات في سرعة تحللها فإن سرعة تحلل المبيد الواحد تتأثر كثيرًا بالظروف البيئية المحيطة كالأتي:

١- الظروف اللاهوائية تؤدي إلي إطالة عمر المبيد في التربة، وقد يرجع ذلك إلي أن الإنزيمات التي تعمل علي هذه المركبات تحتاج إلي الأكسجين لعملها كما في حالة Hydrocarbon pesticides.

٢-عملية التحلل تختلف باختلاف قوام التربة، وذلك لأن عملية ادمصاص المبيدات علي مواد التربة الغروية يقلل هذه المبيدات للتحلل الميكروبي وذلك لسببين:

أ- ادمصاص المبيد نفسه علي غرويات التربة يقلل من قدرة الميكروبات علي تحليله أو إزالة سميته.

ب-الإنزيمات المحللة للمبيد إن كانت إنزيمات خارجية فإن ادمصاصها علي غرويات التربة يقلل من فعاليتها.

٣-إن العوامل المؤثرة علي النشاط البيولوجي في التربة عموما ينعكس أثرها علي قدرة الميكروبات علي تحليل المبيدات.

٤-التحلل أسرع في الوسط المتعادل عن الوسط الحمضى.

٥-تركيب المجموعة الميكروبية للتربة عامل مؤثر أساسي علي سرعة التحلل.

٦-درجة الحرارة ودرجة الرطوبة عوامل لها تأثير كبير لما لها من آثار علي النشاط البيولوجي في التربة عموماً.

ورغم أن تحلل المبيدات بواسطة الميكروبات هو الغالب في الأراضي، إلا أن هذه المبيدات قد تختفي من التربة بطرق غير بيولوجية مثل الفقد بالتطاير أو بالغسيل مع ماء الصرف أو بالتحلل كيميائياً الذي غالباً ما يكون بالتحلل المائى وفيه تنتج مواد غير سامة.

ويلاحظ أن التحلل غير البيولوجي، لا يؤدي إلي التكسير الكامل للمبيد أو معدنته وذلك كما يحدث في حالة التحلل البيولوجي، وعلي ذلك فإن نواتج التحلل غير البيولوجية تتراكم بالتربة، ويمكن دراسة التأثير البيولوجي علي المبيدات بمقارنة التغيرات التي تحدث في أرض معقمة بأخرى غير معقمة.

الميكروبات المحللة للمبيدات في الأرضي وطرق التحلل

تحليل المبيدات بيولوجيا يتم بواسطة مجموعة كبيرة من الميكروبات غير ذاتية التغذية وهذه الميكروبات توجد بوفرة في الأراضى الخصبة مثل بكتريا:

Arthrobacter, Achromobacter, Flavobacterium, Pseudomonas, Xanthomonas, Klebsiella, Corynebacterium, Bacillus and Clostridium.

ومن الأكتينوميسيتات *Streptomyces and Micromonospora*.

ومن الفطريات

Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium, Mucor, Penicillium and Trichoderma.

والأنواع القادرة علي التحليل تختلف حسب نوع المبيد تحت الدراسة، فقد وجد أنه عندما يضاف مبيد الحشائش 2,4-D إلي التربة فإن جزءاً من ميكروبات التربة وأغلبها بكتريا ينشط في أكسدة هذا المبيد. ولقد اتضح أن تحلل هذا المبيد عملية بيولوجية حيث أن هذا المبيد يبقى في التربة المعقمة لمدة طويل، ويختلف الوقت اللازم لتحلل المبيد واختفاء السمية من التربة الطبيعية حسب الظروف البيئية وخواص الأرض الطبيعية والكيماوية واختلاف المجموعة الميكروبية السائدة في التربة، أنواع البكتريا القادرة علي تحليل هذا المبيد (2,4-D) تتضمن أنواعاً تابعة للأجناس الأتية:

Arthrobacter, Achromobacter ,Corynebacterium and *Flavobacterium.*

وتتضمن التغيرات الميكروبية تحلل السلاسل الجانبية علي الجزئ نزع ذرات الكلور Dechlorination كما تتضمن كسر الأنوية العطرية.

وتقوم بكتريا مثل *Pseudomonas, Flavobacterium* and *Bacillus* بتحليل مبيد Parathion وهو مبيد حشرى من نوع المركبات الفوسفورية العضوية، ويحدث تحلل هذا المبيد حتى في الأراضى المغمورة والمنزرعة أرز وذلك بالتحلل المائى للمبيد بواسطة *Pseudomonas* مع إنتاج P-nitrophenol أو باختزال مجموعة النيترو إلي نيتريت بواسطة *Bacillus*.

ويجب أن نلاحظ أن تأثير الميكروبات علي المبيدات ليس دائما في صالح تقليل سمية المبيد أو إزالتها، ففي بعض الأحوال قد يؤدي النشاط الميكروبى إلي زيادة سميته.

لذلك فإنه يمكن تقسيم أثر الميكروبات علي المبيدات إلي ثلاثة أقسام رئيسية هي:

١- قد يكون المركب الأصلي للمبيد غير سام ولكن يتحول إلي مركب سام تحت تأثير النشاط البيولوجي في التربة وتسمي هذه العملية التنشيط Activation.

٢- قد يكون المركب الأصلي سام ويؤدي النشاط البيولوجي إلي تحوله إلي مركب غير سام Detoxification.

٣- قد تؤدي عملية التحلل البيولوجي إلي تحول المبيد السام سريع التحلل إلي مركب أخر سام أيضا وشديد المقاومة للتحلل البيولوجي وسبب هذه المقاومة غير معروف.

تمثيل المبيدات Pesticides metabolism

عند تحلل المبيدات بواسطة الميكروبات، فإنها تتعرض لواحد أو أكثر من أنواع التفاعلات الأتية:

١- التحلل Degradation: وفيها يتحلل المركب المعقد التركيب إلي نواتج بسيطة التركيب. وفي هذه الحالة يحدث غالبا معدنة للمبيد Mineralization وتتكون نواتج مثل CO_2, H_2O بالإضافة إلي CH_4, NH_3 وكلور إذا كان المبيد يحتوى علي نيتروجين وكلور.

٢- إزالة السمية Detoxification: وذلك بإزالة المجاميع السامة التي بالمبيد وبذلك يصبح المبيد غير سام.

٣- التنشيط Activation: وفيها يتحول المركب الأصلي للمبيد غير السام إلي مركب سام بفعل الميكروبات، والناتج هو المبيد الحقيقي وذلك كما يحدث في حالة تنشيط مبيد الحشائش (2,4-D B) إلي 2,4-D وكذلك في تنشيط مبيد الحشرات Phorate.

٤- تفاعلات إضافة Additive reactions : وفيها يحول الميكروب المركب البسيط إلي مركب أكثر تعقيدا بإضافة مجموعات كيماوية من نواتج التمثيل الغذائى إليه مثل إضافة مجموعة ميثيل - مجموعة من حمض أميني أو حمض

عضوي أو إحداث بلمرة للمركبات الحلقية كما يحدث في حالة مبيد الحشائش المسمى **Propanil** حيث تتكثف الحلقة إلي حلقتين.

Propanil →3,4dichloroanilin → 3, 4-dichlorophenyl hydroxylamine → A product of 2 benzine rings

٥- **Defusing** وفيها يتحول المركب غير السام (الذي يمكن أن يتحول بالتنشيط إلي مركب سام) إلي ناتج غير سام ولا يتأثر بعد ذلك بعملية التنشيط إذا ما تعرض لها.

٦- تغير مدي السمية **Changing the spectrum of toxicity** وفيها يتحول المبيد السام لمجموعة معينة من الآفات إلي مبيد سام لأكثر من مجموعة من الكائنات، وذلك كما يحدث في حالة مبيد الفطريات المسمي **Penta chloro-benzyl alcohol** الذي يتحول إلي **Chlorinated benzoic acid** الذي يقتل النباتات أيضا، وتحلل الميكروبات المبيدات بطرق متعددة وتمثل التفاعلات التالية الخطوات الأولى في تمثيل المبيد:

١) إضافة مجموعة هيدروكسيل

$$R-CH_3 \longrightarrow R-CH_2OH$$

٢) إزالة أو إضافة مجموعة ميثيل أو أكثر وهذه التفاعلات كثيرة الحدوث في المبيدات.

$$RN(CH_3)_2 \longrightarrow RNH_2$$

٣) إزالة الكلور وبذلك تزول سمية المركب ويحل محل الكلور ذرة أيدروجين أو مجموعة أيدروكسيل.

$$RCH_2Cl \longrightarrow RCH_2OH$$

٤) أكسدة الكبريت

$$R_2S \longrightarrow R_2SO_2$$

٥) اختزال مجموعة النيترو لتصبح نيتريت أو أمين

$$R-NO_2 \longrightarrow R-NH_2$$

وقد تستبدل مجموعة النيترو بمجموعة أيدروكسيل

$$R-NO_2 \longrightarrow R-OH$$

٦) تحلل السلسلة الجانبية المتصلة بالحلقة العطرية أو كسر رابطة الإستر.

ويسبق هذا التفاعل كسر النواة العطرية، والحمض الدهني الناتج يتحلل بطريقة β- oxidation مع إنتاج حمض الخليك وهذا التحلل يؤدي إلي إزالة وحدات من ذرتين كربون من طرف السلسلة الجانبية للمركب في كل خطوة.

$$R-CH_2-CH_2-CH_2-COOH \rightarrow R-CH_2-CO-CH_2-COOH \rightarrow R-CH_2-COOH + CH_3-COOH$$

٧) التحلل المائى لجزئ المبيد

$$R-\overset{\overset{O}{||}}{C}-OR1 + H_2O \xrightarrow{H_2O} R-\overset{\overset{O}{||}}{C}-OH + R1-OH$$

٨) كسر النواة العطرية

يتطلب كسر النواة العطرية للمبيد إضافة أكسجين الهواء الجوي، وتنتج من الأكسدة مركبات مثل حمض الخليك والبيروفيك والسكسنيك والفيوماريك والاسيتالدهيد، وفي حالة غياب أكسجين الهواء الجوي أى تحت الظروف اللاهوائية فإن المركبات العطرية تظل متراكمة بالتربة.

تأثير المبيدات علي النشاط البيولوجي

نتائج البحوث في هذا المجال متناقضة تناقضاً كبيرًا فمنها ما وجد أن لها تأثيرًا منشطاً، ومنها ما وجد أن لها تأثير مثبط، والبعض كان تأثيره محدودًا، وذلك

الاختلاف في النتائج راجع لجملة أسباب، فالاختلاف في النتائج قد يرجع إلي اختلاف الوقت الذي قدر فيه اثر المبيد بعد إضافته للتربة، وهذه النقطة لها أهمية خاصة فقد لوحظ من الدراسات أن بعض المبيدات قد يكون لها تأثير واضح علي النشاط البيولوجي في التربة بعد إضافتها مباشرة، ويستمر هذا الأثر لمدة محدودة ثم بعد ذلك يستعيد النشاط البيولوجي مستواه الطبيعي، بل قد يفوق مستواه الأصلي لذلك فإن الوقت الذي تأخذ فيه العينة بعد إضافة المبيد له أهمية كبيرة في اختلاف أثر المبيد. كما تختلف النتائج باختلاف تركيز المبيد لذلك فإن المبيد مثله مثل أى مادة سامة قد يكون في تركيز معين له تأثير ضار علي الميكروبات بينما في تركيز أخر اقل قد لا يكون له تأثير أو قد يكون تأثيره منشطا، كما تختلف النتائج حسب المجموعة التي يدرس أثر المبيد عليها فقد يكون المبيد مثبطا لمجموعة معينة وليس له تأثير علي مجموعة أخرى.

عمليتي التأزت وتثبيت النيتروجين الجوي التكافلية من أكثر العمليات البيولوجية تأثراً باستخدام المبيدات ، فبالنسبة لعملية التأزت فمن المعروف أن هذه العملية تقوم بها مجموعة محددة متخصصة من الميكروبات وهذا يجعلها شديدة الحساسية لتغير الظروف مقارنة مع عملية أخرى مثل عملية النشدرة مثلاً والتي تقوم بها أنواع كثيرة من الميكروبات بعضها حساس وبعضها غير حساس مما يجعلها لا تتأثر كثيرا بالمبيدات أما عملية تثبيت النيتروجين التكافلية فمن الواضح أن إضافة أحد المركبات في مناطق جذور النباتات لمقاومة فطر معين من الفطريات التي تصيب الجذور يمكن أن يؤدي إلي إحباط عملية تكوين العقد البكتيرية ، وعلي العموم فإنه من الضروري قبل إدخال مبيد جديد في التطبيق الزراعي أن ندرس مدي أثاره ومدى أضراره علي النشاط البيولوجي ومدي تأثيره علي تلوث النشاط البيئي.

الفصل الرابع

ميكروبيولوجيا مياه الشرب

Microbiology of drinking water

تعتبر المياه هي أساس الحياة علي الأرض لجميع الكائنات الحية سواء كان هذا الاستخدام بطريقة مباشرة أو بطريقة غير مباشرة وترجع أهمية المياه في حياتنا إلي ما يلي:

١-يشكل الماء حوالي ٩٠٪ من تركيب الخلية الحيوانية أو النباتية لذلك فإن المياه عنصر ضروري في حياة الكائن الحي.

٢-يحتاج الإنسان إلي المياه في أغراض الشرب حيث يستهلك يوميا حوالي ٢ لتر أو أكثر معظمها في صورة مياه شرب وجزء منها علي هيئة مشروبات أخري ، يمثل الماء الجزء الأساسي في تركيبها كما يحتاج الإنسان يومياً إلي كميات أكبر كثيرا في أغراض النظافة وإعداد الأطعمة، ويحتاج الحيوان كذلك إلي كميات ضخمة من المياه للشرب والنظافة كما يحتاج النبات إلي كميات كبيرة من المياه.

٣-تعتمد كثير من الصناعات علي الماء ويمكن القول بأن جميع الصناعات تحتاج أساسا إلي المياه.

٤-تستخدم المياه في إنتاج الطاقة وذلك من خلال تكوين بخار الماء (الطاقة البخارية) كما تستخدم في إنتاج الطاقة الكهربائية كما هو الحال في إنتاج كهرباء السد العالي.

٥-تمثل المياه احدي وسائل النقل الهامة سواء داخل أو خارج البلاد (البحار – الأنهار) حيث تستخدم في نقل الأفراد والبضائع.

ونتيجة لأهمية المياه أصبحت الآن تشغل مساحة كبيرة من تفكير العلماء ويتوقع الكثير أن يشهد القرن الحالي صراعات كثيرة علي مصادر المياه والتي علي الرغم أنها تشغل حوالي ٧٠ ٪ من مساحة الكره الأرضية إلا أن معظمها مياه مالحة.

مصادر المياه Sources of water

يمكن أن نعدد مصادر المياه علي سطح الأرض بالأتي:

١-المياه السطحية Surface water

وهي إما أن تكون مياه عذبة وتتمثل في الأنهار – الجداول المائية – البحيرات العذبة ،أو مياه مالحة وتتمثل في المحيطات – البحار– البحيرات المالحة.

٢-المياه الجوفية Underground water

وهي المياه التي تتجمع في طبقات عميقة تحت سطح الأرض وتتميز بأن محتواها الميكروبي يكون منخفضا للغاية مقارنة بالمحتوي الميكروبي للمياه السطحية ويرجع ذلك إلي حدوث ترشيح للمياه في خلال طبقات الأرض المختلفة والتي سيتم خلالها حجز نسبة عالية جدا من الميكروبات .

وتختلف المياه العذبة عن المياه المالحة أساسا في نسبة الأملاح حيث تحتوي المياه المالحة علي حوالي ٣,٣٪ مواد صلبة منها حوالي ٢,٧ ٪ ملح كلوريد الصوديوم .

وعموما يتوقف مدي الحمل الميكروبي للمياه الجوفية علي مدي مسامية الأرض وعمق الطبقة التي تتجمع عندها المياه ، والمياه الجوفية الناتجة تكون علي درجة عالية من الجودة إذا روعي عند استخراجها استخدام الأعماق المناسبة مع عزل الأبار عن مصادر التلوث المحيطة .

أما المياه السطحية عموما فإنها تتعرض للتلوث من مصادر متعددة وبصورة متكررة فهي تتلوث أساسا خلال تساقط الأمطار المشبعة بميكروبات الهواء خلال غسيل الهواء بمياه الأمطار ، بالإضافة إلي تلوث المياه السطحية بمياه صرف الأراضي الزراعية هذا إلي جانب التلوث بمخلفات الإنسان والحيوان ومخلفات الصناعات المختلفة .

والمصادر الأساسية لمياه الشرب هي المياه العذبة والتي يمكن الحصول عليها من مياه الأنهار أو المياه الجوفية.

مصادر تلوث المياه Sources of water pollution تتعرض المياه الطبيعية للتلوث من أربعة مصادر هي:

أ- التلوث بميكروبات التربة

Pollution with soil microorganisms

يبدأ ذلك بمجرد تساقط الأمطار حيث تحدث عملية غسيل الهواء وما يحمله من أتربة تعلق بها أنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة التي تنتقل من الهواء إلي مياه الأمطار ثم يزداد الحمل الميكروبي بمجرد ملامسة مياه الأمطار لسطح الأرض فيختلط الماء بحبيبات التربة وما تحمله من خليط متنوع من الأحياء الدقيقة والمواد العضوية والغير عضوية الذائبة والمعلقة ويستمر التلوث بجريان الماء علي سطح الأرض في طريقه للتجمع في الأنهار أو البحيرات أو البحار بالإضافة إلي ذلك فإن مصادر المياه الطبيعية قد يحدث لها تلوث بميكروبات التربة نتيجة لوصول مياه صرف الأراضي الزراعية إليها بما تحتويه من عناصر غذائية وكائنات حية دقيقة.

ب- التلوث بمخلفات الإنسان والحيوان

Pollution with human and animal wastes

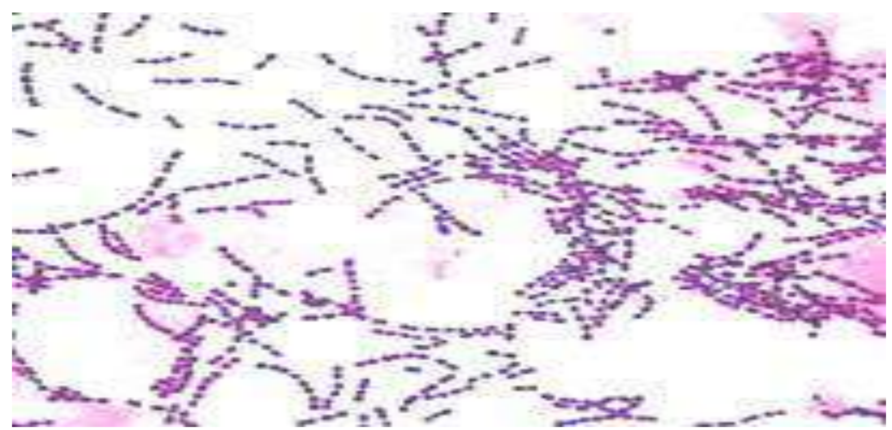
يعتبر هذا المصدر من أخطر مصادر التلوث للمياه حيث يحدث نتيجة لوصول مخلفات الإنسان والحيوان (مياه المجاري أو مياه الصرف الصحي) كما بالشكل بصورة مباشرة أو غير مباشرة إلي مصادر المياه ، وترجع الخطورة إلي أن مياه المجاري تحتوي علي نسبة عالية من المواد العضوية الذائبة والمعلقة والتي تحتوي علي مواد صلبة بنسبة ١٪ من وزنها وتشكل خلايا الكائنات الحية الدقيقة كمية كبيرة من هذه المواد الصلبة ، ومن الناحية الميكروبيولوجية فقد وجد أن الأحياء الدقيقة التي تنتشر وتعيش طبيعياً في أمعاء الإنسان والحيوان هي التي تتواجد بكثرة في المياه الملوثة بمخلفات الإنسان والحيوان ومن أمثلتها ما يلي : *Escherichia coli* , *Streptococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*.



شكل (٤-١): يوضح بعض مصادر تلوث المياه

بجانب الميكروبات الممرضة والتي تكون مصاحبة بالطبع للأنواع البرازية، ولقد ثبت أن مياه المجاري تكاد تحتوي علي كافة أنواع الميكروبات الممرضة سواء كانت بكتريا أو فطريات أو بروتوزوا بالإضافة إلي الفيروسات ، ومن أهم الميكروبات المسببة لأمراض الكوليرا – النزلات المعوية ما يلي :

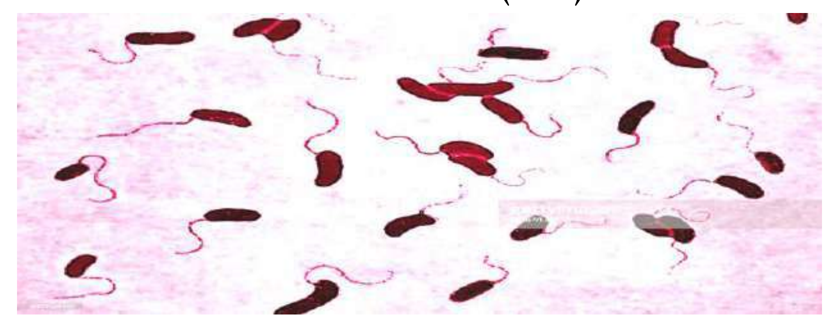
Vibrio cholera, Salmonella typhi , Salmonella paratyphi and Shigella dysenteriae، وتوضح الأشكال التالية نماذج لبعض الميكروبات المرضية الموجودة بالمياه الملوثة.



شكل (٤-٢): بكتريا ***Streptococcus* sp.**



شكل (٤-٣): *Clostridium* sp .



شكل (٤-٤) : *Vibrio cholera*

ولهذا يجب أن نضع في الاعتبار أن وصول مياه المجاري إلي مصادر مياه الشرب يحمل معه مخاطر جسيمة تؤدي إلي انتشار الأوبئة والأمراض.

ج) التلوث بمخلفات المصانع Pollution with factories wastes

تحتوي مخلفات المصانع علي نسب أقل من المواد العضوية والكائنات الحية الدقيقة مقارنة بمياه المجاري ولكنها في نفس الوقت تحتوي علي نسبة كبيرة من المركبات الكيماوية والعناصر الضارة بصحة الإنسان مثل المعادن الثقيلة ومنها النحاس والزنك والزئبق والكادميوم.

وعموما يختلف تركيب المخلف الصناعي باختلاف الصناعة ذاتها الناتج عنها هذا المخلف حيث يختلف فعلا تركيب مخلفات صناعة الحديد والصلب أو صناعات البتروكيماويات عن مخلفات الصناعات الغذائية ، ولهذا نجد أن خطورة التلوث بمخلفات المصانع يرجع إلي التلوث الكيميائي حيث أمكن بالفعل عزل الكثير من

المركبات الكيميائية ذات السمية الشديدة بل والبعض منها ثبت أن لها تأثير سرطاني.

د) التلوث بالمخلفات الزراعية (المبيدات والمخصبات الزراعية)

Pollution with pesticides and fertilizers

حيث تحمل هذه المخلفات متبقيات المخصبات الزراعية ومبيدات الأفات التي قد تصل مع مياه الري والصرف إلي موارد المياه العذبة .

ومن المعروف أن معظم المجتمعات تحصل على المياه اللازمة للشرب من المياه السطحية كمياه الأنهار والبحيرات ، وهى مياه عرضة دائما للتلوث من مخلفات المنازل والمزارع والمصانع . وتزداد حدة مشاكل التلوث بازدياد عدد السكان لزيادة ما ينتج عنهم من مخلفات .

وتسبب المياه الحاملة لميكروبات مرضية مشاكل صحية خطيرة ،إذ ينتقل عن طريق المياه الميكروبات المعوية المرضية التى تسبب عدوى للجهاز المعوي مثل بكتريا التيفود والكوليرا والدوسنتاريا الباسيلية والأميبية ، وفيروسات شلل الأطفال والالتهاب الكبدى الوبائى وتوجد هذه المسببات المرضية فى بول وبراز المرضى وحاملى العدوى وتنساب هذه الميكروبات مع مياه المجارى فتنتقل إلى مياه الشرب وتلوثها.

وتستخدم المبيدات الحشرية في مجالات الزراعة والصحة العامة للقضاء على الأفات والحشرات، وبصفة عامة يؤدي استخدام المبيدات إلى اختلال التوازن البيئي من خلال تلويث عناصر البيئة المختلفة من تربة وماء ونبات وحيوان بشكل يصعب إعادة توازنها، وتشمل المواقع المعرضة للتلوث بالمبيدات عن طريق المياه الجوفية والأبار والينابيع والأنهار والبحيرات والخزانات المائية والبرك، وتتلوث مياه الشرب بالمبيدات بأكثر من وسيلة منها الانتقال العرضي من المناطق المجاورة أثناء عملية الرش أو من جراء التسرب من الأراضي التي تتعامل مع مبيدات بالتزامن مع حركة الماء، وبالتالي تمثل مخلفات المبيدات مشكلة خطيرة سواء بالنسبة لصحة

الإنسان من حيث تأثيرها على الجهاز التنفسي والجلد والعين أو باعتبارها مهلكة للأسماك ، كما أن المبيدات ضارة بالحيوانات المنتجة للبن عند شربها لمياه ملوثة بها.

وهناك تأثيرات صحية ضارة للمبيدات المذابة في المياه التي قد تنتقل إلى التربة وينتج عنها زراعة نباتات ملوثة أو نتيجة تناول الحيوانات لنباتات تمت سقايتها بالماء الملوث أو شربها من الماء الملوث مباشرة وهي:

- ظهور أعراض مظاهر الحساسية الصدرية والربو وتصلب الشرايين، وظهور أعراض السرطان.
- تضخم الكبد، وظهور الأمراض الجلدية وأمراض العيون، وحدوث اضطرابات في المعدة.
- فقدان الذاكرة وبعض مظاهر التبلد والخمول.
- تدمير العناصر الوراثية في الخلايا، وتكوين أجنة مشوهة.

ورغم المأسي التي تحيط بالتعامل مع المبيدات، إلا أنه لا يمكن الاستغناء عنها كلية، لأن ذلك يعني انتشار الحشرات والأفات بصورة مخيفة.

أما بالنسبة للتلوث المائي بالمخصبات الزراعية، سواء كانت نيتروجينية أو فوسفاتية أو بوتاسية، والتي يتزايد استخدامها نظراً لمحدودية التربة الصالحة للزراعة، والاتجاه نحو التوسع في الزراعة الكثيفة لزيادة إنتاجية الزراعة من الغذاء مع النمو المضطرد للسكان، فمثلاً ينشأ التلوث المائي بالمخصبات الزراعية في حال استخدامها بطريقة غير محسوبة، مما يؤدي إلى زيادتها عن حاجة النبات، فتذوب في مياه الري التي يتم التخلص منها في المصارف، أو تتراكم بمرور الزمن لتصل إلى المياه الجوفية التي ترتفع فيها نسبة مركبات النترات والفوسفات، كما تلعب الأمطار دوراً في حمل ما تبقى منها في التربة ونقلها إلى المجاري المائية المجاورة.

وتعد المركبات الفوسفاتية من أهم الملوثات المائية، حيث يترتب على زيادة نسبتها في المياه إلى الإضرار بحياة كثير من الكائنات الحية التي تعيش في المياه، وينجم عن الإفراط في المركبات الفوسفاتية أثاراً ضارة منها:

- يتصف هذا النوع من المخصبات بثباته الكيميائي بحيث يجعله يستمر في التربة لفترة طويلة، فالنباتات والمحاصيل لا تستطيع أن تمتص كل ما يضاف منها إلى التربة، فضلاً عما تتصف به من سمية وتحدث ضرر لكل من الإنسان والحيوان، مما يستوجب عدم زيادة مركبات الفوسفات في مياه الشرب عن حدود معينة تقررها السلطات المحلية المعنية بالأمر.
- تعمل المركبات الفوسفاتية على النمو الزائد للطحالب وبعض النباتات المائية في المسطحات المائية المغلقة كالبحيرات، والتي تستقبل في أغلب الأحيان مياه الصرف الصحي، حتى تصل لحالة تشبع غذائي يؤدي بمرور الزمن إلى خلوها من الأكسجين، وبالتالي القضاء على ما بها من أسماك وكائنات بحرية أخرى.
- تساهم مياه الصرف الزراعي ومياه الأمطار والمياه الجوفية بنسبة مركبات فوسفورية إلى المجاري المائية تفوق بكثير تلك التي تحمله مياه الصرف الصحي والملوثات الصناعية.

أما التلوث المائي بمركبات النترات يعتبر من أكبر وأخطر مشكلات التلوث في العالم ومن أهم هذه المشكلات ما يلي:

- يؤدي الإسراف في استخدام الأسمدة النيتروجينية إلى زيادة تركيزها في المجاري المائية لوجود فائض عن حاجة النباتات، وتتسرب مع مرور الوقت إلى المياه الجوفية، أو تجرفها مياه الأمطار معها إلى المجاري المائية التي يستخدمها الإنسان.
- وجود نسبة عالية من النترات في عديد من النباتات التي تستخدم في تحضير طعام الإنسان.
- التوسع في استخدام مركبات النترات والنيتريت كمادة حافظة، سواء في المعلبات الغذائية أو في بعض أنواع اللحوم المملحة والمحفوظة انطلاقاً مما تتصف به من خواص مضادة للجراثيم وإضافتها لوناً خاصاً ورائحة مميزة.

- توجد مركبات النترات بنسبة عالية في بعض أنواع المشروبات مثل الجعة، نتيجة شمول جزء كبير من أيون النترات المستخلص من الشعير إلى أيون النيتريت السام، أثناء تحضير الشراب عن طريق التخمر.

وقاية المياه من التلوث Protection of water from pollution

يظل تلوث المياه العذبة مسبباً رئيسياً للأمراض والوفاة في معظم دول العالم النامي ويأخذ الأشكال التالية:

١-استنزاف كميات كبيرة من الأكسجين الذائب في الماء، نتيجة ما يخلط من صرف صحي وزراعي وصناعي مما يؤدي إلى تناقص أعداد الأحياء المائية.

٢-تؤدي زيادة نسبة المواد الكيميائية في المياه إلى تسمم الأحياء حيث تكاد تخلو أنهار من مظاهر الحياة بسبب ارتفاع تركيز الملوثات الكيميائية فيها.

٣-ازدهار ونمو البكتريا والطفيليات والأحياء الدقيقة في المياه مما يقلل من قيمتها كمصدر للشرب أو للري أو حتى للسباحة والترفيه.

٤-قلة الضوء الذي يخترق المياه لطفو الملوثات على سطح المياه، والضوء يعتبر ضرورياً لنمو الأحياء النباتية المائية كالطحالب والعوالق.

وللحفاظ على المياه الطبيعة يجب سن الكثير من القوانين والتشريعات الحازمة لمحاولة الحد من تلوث المياه، بجانب بناء الحكومات محطات لتنقية المياه ومعالجتها من المخلفات والنفايات، كذلك وضع حد أعلى لتركيز الملوثات في المياه ليضمن حد أدنى لسلامة المياه، كل هذا بجانب التوعية في وسائل الإعلام المختلفة وشبكة المعلومات الدولية وفي دور العبادة بأهمية المحافظة على المياه.

ومن بعض الحلول الأخرى لمعالجة المياه من التلوث

١-سرعة معالجة مياه الصرف الصحي قبل وصولها للتربة أو للمسطحات المائية الأخرى، والتي يمكن إعادة استخدامها مرة أخرى في ري الأراضي الزراعية لكن بدون تلوث للتربة والنباتات التي يأكلها الإنسان والحيوان.

٢-التخلص من نشاط النقل البحري وما يحدث من تسرب للنفط في مياه البحار أو الأنهار الملاحية من خلال الحرق أو الشفط.

٣-محاولة دفن النفايات المشعة في بعض الصحاري المحددة، لأنها تتسرب وتهدد سلامة المياه الجوفية.

٤-فرض احتياطات أمنية على نطاق واسع من أجل المحافظة على سلامة المياه الجوفية كمصدر أمن من مصادر مياه الشرب، وذلك بمنع الزراعة أو البناء أو قيام أي نشاط صناعي قد يضر بسلامة المياه.

٥-محاولة إعادة تدوير بعض نفايات المصانع بدلاً من إلقائها في المصارف ووصولها إلى المياه الجوفية بالمثل طالما لا يوجد ضرر من إعادة استخدامها مرة أخرى.

٦-التحليل الدورى الكيميائى والميكروبيولوجي للماء بواسطة مختبرات متخصصة لضمان المعايير التي تتحقق بها جودة المياه وعدم تلوثها.

٧-الحد من تلوث الهواء الذي يساهم في تلوث مياه الأمطار وتحولها إلى ماء حمضي يثير الكثير من المشاكل المتداخلة

٨-يجب توافر الوعي البشري الذي يؤمن بضرورة المحافظة على المياه من التلوث.

وقد تكون المياه صالحه للشرب أو غير صالحة للشرب.

(١)المياه الصالحة للشرب: وهى مياه عديمة اللون والطعم والرائحة خالية من المواد المعلقة والمواد الكيميائية والمواد المشعة والميكروبات المرضية .

(٢) مياه غير صالحة للشرب: هذه المياه عكس المياه السابقة الصالحة للشرب فقد تحتوى على معلقات أو كيماويات أو مواد مشعة أو ميكروبات ضارة بالصحة.

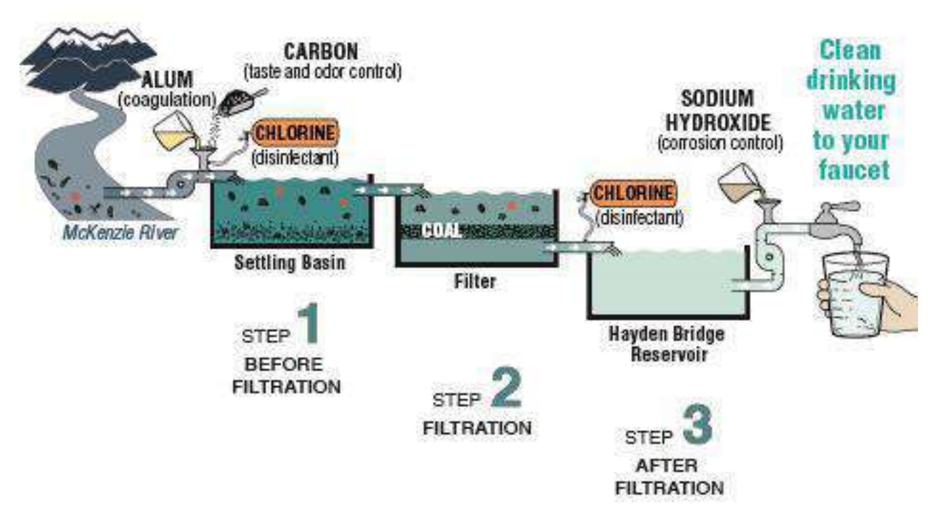
خطوات تنقية مياه الشرب Steps of water purification

إذا لم يتيسر الحصول على مصدر ماء خالي من التلوث فإنه يجب تنقية الماء حتى يصبح صالحاً للاستهلاك الأدمى وذلك باستخدام الخطوات التالية.

١- وقاية مصدر المياه من التلوث بمياه المجاري

يعتبر تلوث مياه الشرب بمياه المجارى أهم وأخطر مصادر التلوث فهو الطريق الوحيد من الناحية العملية التى تصل عن طريقها الميكروبات المرضية إلى مياه الشرب وينتج ذلك من مرور مصادر مياه الشرب بجوار مصدر مجارى فترشح مياه المجارى إلى قنوات المياه أو ينتج التلوث من صرف مخلفات المجارى فى نهر أو مصدر لمياه الشرب.

لذلك فإنه يلزم معالجة مياه المجارى والتخلص منها بالطرق الصحية علماً بأن مياه المجارى بالمدن تجمع فى مواسير مغلقة بعيدة عن مواسير مياه الشرب حتى لا تتسرب إليها ميكروبات مياه المجارى ثم يجرى التخلص منها وبذلك يعتبر إزالة مصدر التلوث والوقاية من التلوث بمياه المجارى بداية الخطوات التى تتبع فى تنقية مصدر المياه .



شكل (٤-٥): وحدة تنقية مياة الشرب

٢- التصفية Screening

يتم خلالها إزالة الأشياء أو القطع الصلبة التي يمكن أن تسد المأخذ وتتلف المعدات وتعيق المضخات أو التنقية اللاحقة، وقد يتم هنا مرحلة إضافية تسمى المعالجة الابتدائية والتى فيها يتم إضافة كلور في حالة وجود بعض الطحالب والتى تولد رائحة وطعم غير مستحب في الماء ويعيق عملية الترشيح إذ أنه يعمل على سد المسامات في وسط الترشيح، ويمكن أيضاً استخدام الكربون المنشط لإزالة العديد من المركبات العضوية التي تسبب تغيرا في طعم ورائحة المياه.

٣-الترويق Clarification

تعد عملية الترويق من أوائل العمليات التي استخدامها الإنسان في معالجة المياه . وتستخدم هذه العملية لإزالة المواد العالقة والقابلة للترسيب، وتتكون المواد العالقة من مواد عضوية وطينية، كما يحتوي على بعض الكائنات الدقيقة مثل الطحالب والبكتريا ، ونظرا لصغر حجم هذه المكونات وكبر مساحتها السطحية مقارنة بوزنها فإنها تبقي معلقة في الماء ولا تترسب ، حيث تستخدم بعض المواد الكيميائية لتقوم بإخلال اتزان المواد العالقة وتهيئة الظروف الملائمة لترسيبها وإزالتها من أحواض الترسيب وتتم هذه العملية على ثلاث مراحل وهى:

أ. الترويب Coagulation

ويهدف لإزالة المواد الغروية المعلقة (المسببة للعكارة) وهي لا تترسب بسهولة لذلك نلجأ إلى إضافة المواد الكيميائية المجلطة مثل كبريتات الألمونيوم (الشبه) أو كبريتات البوتاسيوم أو كبريتات الحديديك إلى المياه (بنسبة ١٦ جرام / م٣) شبه صلبة أو (٣٢ جرام / م٣) شبه سائلة لتتفاعل مع قلوية الماء وهو بيكربونات الكالسيوم فينتج كبريتات الكالسيوم وهيدروكسيد الألومنيوم وثاني أكسيد الكربون مكونة بهذا محلول غروى وهو ما يعرف باسم الندف.

ب. التنديف Flocculation

يهدف إلى تجميع الندف الناعمة المشكلة بالمرحلة السابقة فتجذب إليها المواد الدقيقة العالقة بالماء وكذلك الكائنات الحية الدقيقة فيزداد حجمها وكثافتها لتشكل ندفاً أكبر يسهل ترسيبها بالجاذبية.

ج. الترسيب Sedimentation

تعتمد المرسبات في أبسط صورها على فعل الجاذبية حيث تزال الرواسب تحت تأثير وزنها ،وعند ترك المياه ساكنة لمدة من الزمن فى خزانات أو أحواض الترسيب فإنه يرسب ما بها من مواد عالقة وميكروبات إلى القاع .

وفي هذه المرحلة نتخلص من ٩٥% من المواد العالقة بالماء ويتبقي ٥% نتخلص منها في المرحلة التالية . وعملية الترسيب تقلل من المحتوى الميكروبى للمياه ولكنها لا تعتبر بمفردها كافية لتنقية المياه تنقية تامة مما بها من ميكروبات ، ولذلك فهى تعتبر خطوة أولى فى عملية التنقية .

٣- الترشيح Filtration

ويتم ذلك بإمرار الماء على طبقات متعاقبة من الحجارة والحصى والرمل الخشن والناعم وبذلك تحجز هذه الطبقات خاصة طبقة الرمل الناعم معظم المواد العالقة ومعظم الميكروبات من المرور ، وعندما يستمر تشغيل المرشح تتكون طبقة جيلاتينية بين حبيبات الرمل الناعم فتزيد من كفاءة الترشيح ولكنها فى نفس الوقت تقلل من سرعته وعند حدوث ذلك يجب تنظيف المرشح .

ويمكن أن يتم الترشيح بالطريقة البطيئة أو بالطريقة السريعة ، ففى الطريقة البطيئة تلزم مساحات كبيرة نسبياً أما فى الطريقة السريعة فيكون الترشيح فى عدة وحدات حتى يمكن تشغيل بعضها مع تنظيف البعض الأخر وتمرر المياه المرشحة إما تلقائياً أو تحت ضغط ، والترشيح لا يعتبر الخطوة النهائية فى عملية التنقية لأنه لا يزيل كل الأحياء الدقيقة الموجودة بالمياه بل يتبقى بعضا منها ، فبعد المرور على المرشحات الرملية التى تعمل بطريقة صحيحة يكون قد تم التخلص من حوالى

٩٠-٩٩% من الأحياء الدقيقة وتحجز كذلك معظم المواد العالقة وهذا يسهل إجراء التنقية النهائية للماء للتخلص مما بقى به من الأحياء الدقيقة .

٤ -التطهير

تعتبر الطريقة المثلى للتطهير هى الطريقة القادرة على إزالة الكائنات الممرضة الى درجة تصبح بعدها المياه أمنة، ويعد التطهير باستخدام الكلور من أوائل العمليات التي استخدمت لمعالجة المياه بعد عملية الترشيح وذلك للقضاء على بعض الكائنات الدقيقة من بكتريا وفيروسات.

وسائل وطرق التطهير

أولا: المواد الكيميائية

هناك الكثير من المواد الكيميائية التى تستخدم فى التطهير ويعد غاز الكلور من اكثر طرق التطهير شيوعا كما يستخدم المواد المؤكسدة الأخرى مثل البروم واليود والفلور

وقد انتشر استخدام الأوزون والكلور في تطهير مياه الشرب ، حيث انتشر استخدام الأوزون في أوروبا، وفي الأونة الأخيرة اتجهت كثير من المحطات في الولايات المتحدة الأمريكية الى استخدام الأوزون بالرغم من عدم ثباته كيمائيا وارتفاع تكلفته مقارنة بالكلور، وذلك لظهور بعض الأثار السلبية الصحية لاستخدام الكلور في تطهير مياه الشرب، كما يعد الأوزون مطهر فعال جدا وانتشر استخدامه كثيرا على الرغم من أنه لا يترك أى متبقيات تطيل من أثره فى التطهير، ويضخ هذا الجزيء الغني بالأكسجين في أنظمة المياه لإزالة الملوثات البيولوجية مثل البكتيريا، والفيروسات والكيماويات العضوية. كما أنه فعال في أكسدة وإزالة الحديد، والكبريت، ، والمنجنيز، والمواد الأخرى غير العضوية، وغاز الأوزون غير مستقر ويرتد بسرعة إلى جزيء أكسجين عادي (O_2) بذرتين بدلا من ثلاث ذرات، وبسبب هذه الحالة لا يمكن تخزينه أو نقله بسهولة، وبدلاً من ذلك تنتج محطات المعالجة الأوزون في موقع العمل، ومتى أنتج الأوزون يدفع للاتصال بماء المصدر ويخلط به لمدة

ملائمة، وبالنظر إلى أن الأوزون عبارة عن أكسجين خالص فإنه لا يخلف أثار باقية أو روائح في الماء، ولسوء الحظ، فإنه لا يوفر أيضا حماية طويلة ضد الترسيبات. وإذا تعين تخزين المياه لفترات طويلة أو توزيعها عبر مسافات طويلة، قد يكون من الضروري دعم عملية التطهير بالأوزون بمعالجة طويلة الأمد مثل الكلور.

وأنظمة الأوزون غير شائعة في كثير من دول العالم ولكنها تنطوي على الكثير من البنية التحتية، ويمكن أن يكون تنفيذها باهظ التكاليف، وعلاوة على ذلك فإن تشغيل وصيانة مثل هذه الأنظمة يحتاج إلى عمال مهرة قد لا يتوفر وجودهم في جميع المناطق .

إضافة الكلور (الكلورة) **Chlorination**

يعد غاز الكلور من المواد الكيميائية التي تلعب دورا هاماً في حياتنا نظرا لاستخداماته العديدة والحيوية، ويتميز غاز الكلور بلونه الأصفر المخضر إذا كان تركيزه عالياً، أما في حالة التركيز المنخفض يكون عديم اللون، كما أن له رائحة نفاذة ولاذعة.

عند إضافة الكلور الى ماء نظيف كيميائيا (ليس به مواد عضوية أو غير عضوية) فإنه يكون محلولا من حمض الهيبوكلورس كما فى المعادلة التالية:

$$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + HOCl \text{ (Hypochlorous acid)}$$

$$HOCl \longrightarrow HCl + O \quad \text{(Nascent oxygen)}$$

وتتوقف قوة الأكسدة للكلور وقدرته على التطهير على تكون حامض الهيبوكلورس وقد يتأين إلى الهيدروجين وأيون الهيبوكلوريت ، وتزيد كفاءة التطهير لحمض الهيبوكلورس عن أيون الهيبوكلوريت بمقدار ٤٠-٨٠ مرة، كما يمكن اضافة املاح هيبوكلوريت للصوديوم او البوتاسيوم مباشرة للماء.

والهيبوكلوريت المتولد من تفاعل الكلور مع الماء أو الذى يضاف للماء يمكن أن يتحلل مائياً مكون حمض الهيدروكلوريك وينطلق الاكسجين النشط الذى يرتبط بمجاميع السلفاهيدريل بالإنزيمات ويؤكسدها فتموت البكتريا، وأيون الهيبوكلوريت

نفسه له القدرة على الارتباط بالبروتينات الخلوية مسببة وقف نمو وموت الخلايا البكتيرية.

ويقضى الكلور على كثير من الأنواع البكتيرية حيث يقضى على بكتريا الكوليفورم والبكتريا المرضية. ويمكن تحديد فعالية التطهير باختبار وجود بكتريا الكوليفورم فان وجدت فى الاختبار دل ذلك على وجود البكتريا المرضية حيث أن مقاومة الكوليفورم للتطهير بالكلور عالية.

وتتوقف كمية الكلور أو مركباته التى تضاف إلى الماء على عوامل عديده منها :

١- تركيز الكلور ومدة التأثير.

٢-عدد وأنواع الأحياء الدقيقة الموجودة بالماء.

٣-كمية المادة العضوية خاصة البروتينية الموجودة بالماء فالكلور يتحد بالمادة العضوية فيقل تركيزه وتضعف فاعليته .

٤- درجة الـ pH ودرجة الحرارة فتزيد سرعة تفكك الكلور فى الوسط الحامضى وفى الحرارة العالية فيقل تأثيره .

يتفاعل الكلور مع الماء مكوناً حامض الهيبوكلورس وأيونات الهيبوكلوريت ثم يتفاعل جزء من حامض الهيبوكلورس مع الأمونيا الموجودة في الماء مكونا أمينات الكلور(الكلور المتحد المتبقي) ويطلق على ما تبقى من حامض الهيبوكلورس وأيونات الهيبوكلورايت الكلور الحر المتبقي وهذه المركبات (الكلور الحر والكلور المتحد)هي التي تقوم بتطهير الماء وقتل الجراثيم الموجودة به ، إلا أن الكلور الحر له تأثير مطهر يعادل ٢٥ ضعف تأثير الكلور المتحد تحت نفس الظروف.

ولذلك تلجا كثير من محطات المعالجة الى إضافة الكلور بنسب تكفي للحصول على كلور حر متبقي يضمن تطهير الماء الخارج من المحطة بكفاءة عالية ، بل في الغالب تكون كمية الكلور المضاف كافية لتأمين كمية محدود من الكلور الحر المتبقي في شبكة توزيع المياه ، وذلك لتطهير المياه من أي كائنات دقيقة قد تدخل في الشبكة.

وفى أغلب الأحوال يستعمل غاز الكلور المضغوط لتنقية مياه الشرب مع استعمال أجهزة خاصة للإضافة لضبط الكمية الداخلة إلى الماء، ولتنقية المياه تضاف كمية كافية من الكلور تكفى لتنقية المياه ويتبقى بعد ٢٠ دقيقة من إضافته ٠,٢ الى ٢,٠ مجم / لتر (جزء / مليون) على الأقل من الكلور الفعال المتخلف أو المتبقى Residual chlorine فوجود هذه النسبة يدل على أن كمية الكلور المضافة كانت كافية لقتل الميكروبات الحساسة مع تبقى جزء منه كاحتياط وقائى ضد احتمالات التلوث الأخرى ، وتزداد النسبة المضافة من الكلور إذا زاد عدد الميكروبات بالماء أو احتوى الماء على مواد عضوية أو مواد قابلة للأكسدة وأيضاً حسب الظروف الصحية بالمنطقة .

إضافة الفلور (الفلورة) Fluorination

تهتم بعض الدول بإضافة الفلور إلى ماء الشرب قبل توزيعه على المستهلكين لما لذلك من تأثير على تقليل نسبة التسويس فى الأسنان وتأكلها خاصة فى الأطفال الصغار الذين مازالت أسنانهم فى مرحلة التكوين، ويضاف الفلور فى صورة فلوريد الصوديوم أو سيليكوفلوريد الصوديوم ليعطى فلور متخلف أو متبقى Residual fluorine قدره ١ جزء / مليون وهى نسبة كافية لإيقاف التسويس بأسنان الاطفال وتأثير أيون الفلور على منع التسويس قد يعود إلى اتحاده المباشر مع الأسنان نفسها أو إلى تداخله مع إنزيمات البكتريا المنتجة للأحماض الموجودة بالفم وهى المسببة للتسويس أو إلى عوامل أخرى ٠

ثانياً: الطرق الفيزيائية Physical methods

وتتم هذه العملية باستخدام الحرارة (التسخين) والضوء والأشعة فوق البنفسجية، وتعد طريقة التسخين إلى درجة الغليان أولى الطرق المستخدمة في التطهير ولاتزال أفضلها في حالات الطوارئ عندما تكون كمية المياه قليلة، لكنها غير مناسبة عندما تكون كمية المياه كبيرة كما في محطات المعالجة نظرا لارتفاع تكلفتها.

استخدام الأشعة فوق البنفسجية Utilization of ultra violet

يمكن استخدامها في المياه الصافية الخالية من العكارة حيث أن كفاءة التطهير تعتمد على نفاذية واختراق الأشعة للماء، وطبيعة التلامس بين الماء والأشعة مهمة جدا لأن المواد العالقة والمواد العضوية الذائبة بالإضافة إلى الكائنات الدقيقة نفسها تمتص الأشعة، ومن هنا تظهر صعوبة استخدام الأشعة فوق البنفسجية عند وجود الكثير من الجسيمات فى الماء، والأشعة فوق البنفسجية لها تأثير فعال في عملية التطهير، ولا تسبب أي طعم أو رائحة للمياه ، ومن ناحية أخرى هي طريقة مكلفة وليس لها فاعلية في التحكم في تلوث المياه إذا ما تعرضت لأي مصدر تلوث بعد عملية التطهير.

وتطهير المياه بالأشعة فوق البنفسجية هي عبارة عن عملية طبيعية تماماً وخالية من المواد الكيمائية، يتراوح طول الموجات المستخدمة ضمن نطاق ٢٤٠ حتى ٢٨٠ نانومترا، حيث تقوم الأشعة بتثبيط الحمض النووي لجميع البكتريا بشكل مباشر، يبدأ الإشعاع برد فعل كيميائي ضوئي يؤدي إلى تدمير المعلومات الجينية الموجودة في الحمض النووي، حيث تفقد البكتريا قدرتها على التكاثر وتتلف، حتى أن الطفيليات مثل *Cryptosporidium* أو الجيارديا المقاومة بشكل عنيف للمطهرات الكيميائية، تقل بشكل كبير نتيجة هذا الإشعاع، كما يمكن استخدام الأشعة فوق البنفسجية لإزالة الكلور وأنواع الكلورأمينات من المياه، حيث تسمى هذه العملية بالتحليل الضوئي وتتطلب جرعة أعلى من التطهير العادي.

التقنية المستخدمة Used technology

تتألف وحدات الأشعة فوق البنفسجية لمعالجة المياه من مصدر إشعاع بخاري زئبقي متخصص منخفض الضغط يقوم بإنتاج الإشعاع الفوق بنفسجي عند ٢٥٤ نانومتر، أو من مصدر إشعاع فوق بنفسجي متوسط الضغط يولد ناتجاً متعدد الألوان من ٢٠٠ نانومتر إلى طاقة مرئية تحت الحمراء، إن الطول الموجي الأمثل للتطهير هو القريب من ٢٦٠ نانومتر، إن مصدر الإشعاع المتوسط الضغط فعال بما

يقارب ١٢ بالمائة، بينما مصابيح الضغط المنخفض المملغمة يمكنها أن تكون فعالة بنسبة ٤٠ بالمائة، هذا وإن المصابيح الأشعة فوق البنفسجية لا تلامس المياه على الإطلاق، فهي إما تقع في غطاء زجاجي داخل حجرة المياه أو تحمل خارجياً إلى المياه التي تتدفق من خلال أنبوب فوق بنفسجي شفاف، وبسبب أنها تحمل فإن المياه عندها يمكن أن تمر من خلال حجرة التدفق، والأشعة فوق البنفسجية يتم تسلمها وامتصاصها في المجرى المائي، هذا ويتأثر حجم نظام الأشعة فوق البنفسجية بثلاثة متغيرات وهي: معدل التدفق وقوة المصباح إضافة إلى نفاذية الضوء في المياه، ويتم إنتاج ملف التدفق من حجرة الهندسة حيث يكون قد تم اختيار معدل التدفق وخاصة نموذج الاضطراب، أما ملف الإشعاع فيتم تطويره من المخرجات مثل نوعية المياه ونوع المصباح (طاقته، كفاءة إبادته للجراثيم، الإنتاج الطيفي، وطول القوس) والنفاذ وبعد الكوارتز.

ويمكن استخدام وسائل معالجة المياه باستخدام الأشعة فوق البنفسجية لتطهير المياه بشكل جيد فضلا عن تطهير المياه السطحية، هذا وتقارن المعالجة بالأشعة فوق البنفسجية مع غيرها من أنظمة تطهير المياه فيما يتعلق بالتكلفة والجهد والحاجة إلى الموظفين المدربين تقنياً للقيام بعملية التطهير.

تقدير صلاحية المياه للاستعمال الأدمى

نحكم على صلاحية المياه للاستعمال الأدمى بعد أن نجرى عليها مجموعة من الاختبارات الطبيعية والكيماوية والإشعاعية والميكروبيولوجية وتجرى هذه الاختبارات أيضاً بشكل دورى لمتابعة الظروف الصحية لمياه الشرب ، وليس هنا مجال لدراسة الاختبارات المختلفة إلا إجراء الاختبارات الميكروبيولوجية.

الاختبارات الميكروبيولوجية

ولإجراء مثل هذه الاختبارات تؤخذ عينات ممثله representative samples للمياه المراد فحصها تحت ظروف التعقيم وتحلل ميكروبيولوجيا كالأتى :

١- عدد البكتريا الكلي بالماء كدليل علي صلاحيته للشرب.

تعتبر المقاييس الأمريكية أن الماء صالحاً للشرب إذا احتوى على عدد كلى من البكتريا أقل من ١٠٠ ميكروب / مل مقدرة بطريقة الأطباق على بيئة الأجار المحضن على درجة ٣٧° مئوية لمدة ٢٤ ساعة ويختلف العدد الناتج بطبيعة الحال باختلاف طريقة أخذ العينة وطريقة التقدير ونوع البيئة ودرجة حرارة التحضين .

وبالنسبة للمياه المعدنية فيجب ألا يزيد عدد البكتريا الكلى عن ٣٠/مل ولقد وجد أن العدد الكلى للبكتريا طريقة غير صحيحة للحكم على مدى صلاحية الماء للشرب لأن المياه قد تحتوى على عدد قليل من الميكروبات ولكن من بينها ميكروبات مرضية أو قد تحتوى على عدد كبير من الميكروبات لوجود مواد عضوية أو معدنية بكثرة دون أن يكون بها ميكروبات مرضية ، وتفيد هذه الطريقة عند إجراء مقارنة بين أعداد الميكروبات قبل وبعد إجراء معاملة من معاملات تنقية المياه.

٢-الكشف عن الميكروبات المرضية بكاشفات التلوث الحيوي Bioindicators

الكشف عن الميكروبات المرضية بالماء أمر بالغ الصعوبة لأن هذه الميكروبات قد توجد بأعداد قليلة مما يجعل من الصعب عزلها فى مزارع نقية ، كما أنه ليس من السهل تمييزها بالشكل الخارجى عن الميكروبات الأخرى غير المرضية . فإذا ما أريد الكشف عنها وتمييزها عن غيرها فأن ذلك يتطلب عملاً ومجهوداً كبيراً

ووقتاً طويلاً قد يحدث أثناؤها خطر ، وبالرغم من ذلك فقد لا يتوصل إلى نتائج مقبولة بطريقة غير مباشرة ، ونظرا لأن مصدر الميكروبات المرضية هى مخلفات الصرف الصحى والتى تختلف أنواع الميكروبات وأعدادها تبعا لاختلاف تركيب المخلفات السائلة ، وعموماً فإن واحد سم٣ من المخلفات يحتوى على ملايين من أنواع مختلفة من الميكروبات المرضية.

كاشفات التلوث الحيوي Bioindicators

وجود مياه مجارى فى مياه الشرب يدل على أن هذه المياه خطرة إذ قد تحتوى على واحد أو أكثر من الميكروبات المرضية السابق الإشارة إليها ، ومن المعروف أن عملية الكشف عن كل الميكروبات المرضية والضارة أمر فى غاية الصعوبة، كما أنه يأخذ وقتاً طويلاً جدا فى عملية الكشف، والميكروبات الدالة هي الميكروبات التي إذا وجدت بالماء فإنها تعتبر دلالة على تلوث الماء بمياه المجاري ومن أهم مميزاتها:

١. وجودها فقط في المياه الملوثة نظرا لأن موطنها هو قولون الانسان والحيوان.
٢. تلازم وجودها مع الميكروبات الممرضة.
٣. العلاقة النسبية بين أعدادها والتلوث المائي بالميكروبات.
٤. تتميز بقدرتها على العيش مدة أطول من الميكروبات الممرضة في الماء.
٥. غير ضارة للإنسان وسهولة تداولها.
٦. سهولة الكشف عنها معملياً لوجودها بأعداد كبيرة مقارنة بالبكتريا الممرضة.
٧. من الأمثلة عليها *E.coli* ، *Enterobacter*

1- *E. coli*

من المعروف أن أمعاء الإنسان والحيوانات ذات الدم الحار تحتوى على أعداد كبيرة من الميكروبات أغلبها من النوع غير الضار ومن هذه الميكروبات *Escherichia coli* الذى يوجد بكثرة فى البراز ، وعلى ذلك فإن وجود ميكروب *E. coli* فى ماء الشرب يؤخذ كدليل حيوى على تلوث هذه المياه بمياه المجارى إذ

تعتبر هذه الميكروبات كاشفات للتلوث ويعنى هذا أن المياه التى يوجد بها كاشفات التلوث مثل *E. coli* يحتمل أن يوجد بها ميكروبات مرضية معوية مثل تلك المسببة لشلل الأطفال، تنتمى بكتريا *E. coli* إلى ما يسمى بمجموعة بكتريا القولون وقد تسمى هذه المجموعة أيضاً باسم Colon group وتتصف أفراد هذه المجموعة بأنها عصوية قصيرة سالبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ، متحركة، لا هوائية اختيارية ، تحلل سكر اللاكتوز ببيئة بوبون اللاكتوز وتنتج حامض وغاز.

وأسباب إختيار *E. coli* كدليل حيوى للكشف عن التلوث هى:

- الكشف عن بكتريا *E. coli* ميسر.
- هذه البكتريا من السهل تداولها فهى غير ممرضة ولا تضر بالقائمين بالعمل.
- مصدرها برازى وتوجد دائماً بالمياه الملوثة ، مادامت البكتريا المرضية موجودة بها.
- تعيش بالمياه لمدة أطول من الميكروبات المرضية أما المياه السليمة غير الملوثة فخالية من بكتريا *E. coli*.

ونظراً لأن بكتريا *E. coli* مصدرها برازى Fecal ، بينما يوجد أفراد أخرى من بكتريا القولون مصدرها غير برازى وقادرة أيضاً على تحليل سكر اللاكتوز إلى حامض وغاز مثل بكتريا *Enterobacter aerogenes* التى توجد على النباتات والحبوب وفى التربة ومثل بكتريا *Klebsiella* التى مصدرها القناة التنفسية لذلك فإنه بعد الكشف عن مجموعة بكتريا القولون بالمياه فإنه يجب التمييز بين الميكروبات المحللة لسكر اللاكتوز البرازية وغير البرازية بمجموعة من الاختبارات والتى تسمى IMViC test حتى يتسنى الحكم بدقة على تلوث مياه الشرب بمياه المجارى ، أما باقى البكتريا المعوية مثل *Shigella* , *Salmonella* , *Proteus* فهى غير محللة لسكر اللاكتوز.

2-Faecal streptococci

وهى من الميكروبات الموجودة أيضا فى أمعاء الإنسان والحيوان وتسمى المكورات السبحية البرازية ومنها الأنواع الأتية:

Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Enterococcus bovis, Enterococcus durans

- **هذه البكتريا لها القدرة على النمو فى وجود أملاح الصفراء bile salts .**
- **لها القدرة على النمو فى تركيزات من sodium azide المثبطة لنمو بكتريا القولون والميكروبات الأخرى السالبة لصبغة جرام.**
- **لها القدرة على تحمل ٦,٥ % NaCl بعكس بكتريا القولون لذلك فهى دليل حيوى مهم في الماء المرتفع في نسبة NaCl وكذلك فى بعض الظروف مثل زيادة الحموضة أو التجمد أو الحرارة أو الجفاف التى لا تتحملها بكتريا القولون، وتتوفر بكثرة في الأمعاء الغليظة للإنسان، واعتمدتها الوكالة الأمريكية لحماية البيئة مؤشرا على التلوث البرازي للمياه منذ أواسط الثمانينيات وذلك لتميزها عن القولونيات بتحمل الملوحة والحرارة والقلوية وبالتالي أصبحت المؤشر الاول للمياه المعدة للترفيه، واعتمدتها بريطانيا مؤشرا لتلوث مياه الشرب بالبراز مع بكتريا *E.coli* .**

3-*Clostridium perfringens*

بكتريا عصوية ذات انتفاخ طرفي لاهوائية مكونة للجراثيم Spores توجد في براز الانسان والحيوان وتعد مؤشرا برازياً، وأعدادها منخفضة نسبيا لكنها شديدة المقاومة ويمكن أن تجدها في المياه الملوثة بالبراز والتي تعرضت لظروف أدت إلى غياب القولونيات مما رشحها لتكون من المؤشرات البرازية المهمة في حالات كتلوث الأبار.

4-Viruses indicators

إن أمعاء الإنسان والحيوان تحتوي بشكل دائم على فيروسات غير ممرضة تعيش على مهاجمة البكتريا المعوية، وهذه الفيروسات يتم طرحها مع البراز ويعد وجودها في أي وسط مؤشرا على التلوث البرازي من جهة وإلى حد ما مؤشر على مثابرة الفيروسات الممرضة في الاوساط البيئية كالماء مثلا، وعموماً فإن المياه يمكن أن تتلوث بأكثر من ١٤٠ نوعاً من الفيروسات عن طريق مياه الصرف الصحي مثل فيروسات الالتهاب الكبدي الوبائي (HAV) وفيروسات الغدد Adenovirusesوالفيروسات المعوية Enteroviruses ، ويمكن استخدام العديد من الفاجات كمؤشرات في المياه على التلوث البرازي ومنها الفيروسات التي تهاجم بكتريا *E. coli*أو ما تسمى Coliphages ومن رصد بعضها يمكن تحديد مصدر التلوث إذا كان بشرياً أو حيوانياً وهذه الفيروسات توجد في البراز الأدمي .

الأمراض التى تنتقل عن طريق المياه

Diseases transmitted via water

إن دراسة أثر الماء على الصحة العامة يواجه صعوبات كثيرة حيث أن الأمراض التي تنتقل عن طريق المياه تنتقل بطرق أخرى مثل الطعام وتلوث الأيدي مما يجعل حصر الأمر في المياه فقط صعباً للغاية، وكبديل عن ذلك اتجهت الدراسات إلى دراسة نسبة الانخفاض في هذه الأمراض عن طريق تحسين جودة المياه والعادات الغذائية والنظافة العامة مثل غسل الأيدي قبل وبعد الأكل وغسل الخضراوات قبل استهلاكها.

ومن المعروف جيدا أن تحسين جودة المياه يؤدي إلى نقص واضح في نسبة انتشار الأمراض التي تنتقل عن طريق الماء مثل الكوليرا والتيفود، وسوف نتناول فيما يلي أهم الأمراض التي تنتقل للإنسان عن طريق المياه:

الحمى التيفودية Typhoid fever

يسبب هذا المرض ميكروب

Salmonella entericalmonella enterica **serovar Typhi** وهي بكتريا ذات خلايا عصوية قصيرة غير متجرثمة ومتحركة، والحمى التيفودية من الإصابات الحادة التى من أهم أعراضها:

١- حدوث ارتفاع في درجه حرارة المريض تستمر لفترة طويلة.
٢- حدوث التهاب في الأمعاء.
٣- تضخم الطحال.
٤- ظهور بقع وردية إلى حمراء في منطقه المعدة في بعض الأحيان.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Enterobacteriales

Family:Enterobacteriaceae

Genus:*Salmonella*

Spcies*: Salmonella enterica* serovar Typhi

هناك خطأ شائع في اعتبار كل عدوى لميكروب السالمونيلا حمى تيفودية، والحقيقة أن الجزء الأكبر من إصابات السالمونيلا لا تسبب التيفود ولكن في أنواع معينة من الميكروب وخاصة في النوع المسمى تيفيTyphi يمكن أن يسبب عدوى بكتيرية خطيرة وطويلة الأمد تسمى الحمى المعوية أو الحمى التيفودية.

عدوى السالمونيلا

الحمى التيفودية تعتبر من الأمراض المتوطنة في الكثير من البلدان خاصة في المناطق التي تفتقر للرعاية الطبية الجيدة.

وفي كل عام تقدر منظمة الصحة العالمية (WHO) عدد الإصابات بالسالمونيلا حول العالم ما يقرب من ١٦ إلى ٣٣ مليون إصابة، وتصل الوفيات إلى نحو ٥٠٠ ألف حالة سنوياً، وتحدث معظم الإصابات للأشخاص الذين لا يتمتعون بمناعة كبيرة مثل الأطفال تحت عمر ٥ سنوات وفي المرضى فوق عمر ٧٠ عاماً، وكذلك المرضى بمرض يؤثر على الجهاز المناعي للجسم مثل مرض الإيدز HIV وأيضاً المرضى الذين يتناولون علاج للسرطانات.

والسالمونيلا بكتريا تصيب الجهاز الهضمي (المعدة والأمعاء)، وتتدرج خطورتها من مجرد النزلات المعوية إذا ظلت الإصابة في الأمعاء، ويمكن حدوث مضاعفات شديدة الخطورة في حالة انتقال الإصابة خارج الأمعاء ودخولها إلى الدورة الدموية Bacteremia ويمكن أن تسبب إصابة أعضاء أخرى مثل الأغشية المخاطية للمخ أو النخاع العظمى أو غيرها، وأيضاً تتأثر الإصابة تبعاً لنوع الميكروب والحالة الصحية للمصاب، ويوجد منها عدة أنواع تتعدى الألاف.

طرق العدوى

تنتقل البكتريا عن طريق تلامس الطعام والشراب للبراز من الشخص المصاب أو الحامل للمرض، وهي تنتقل عبر الماء، لذلك تنتشر في الأماكن التي تنخفض فيها الثقافة الصحية وعدم توافر مياه الشرب السليمة، ويكفي أن نعرف أن إجراء بسيطا مثل اعتياد غسل الأيدي بعد الخروج من دورة المياه وقبل الأكل يساهم بشكل كبير في الوقاية من المرض.

وينتقل المرض أيضاً عبر تناول طعام تم تلويثه عبر تلامسه لبراز حيوانات مصابة بالنسبة للأشخاص الذين يقتنون حيوانات أليفة في المنازل أو الحدائق الملحقة بها، وهذا يحدث في حالة تناول لحوم الدواجن أو البيض، وهي ليست مطهية بشكل جيد أو إذا كانت الأفراد القائمون على عمل الطعام لا يراعون النظافة الشخصية، وإذا لم تكن اليدان مغسولتان بشكل جيد بعد الدخول إلى دورة المياه، ويمكن أيضاً أن ينتقل المرض عن طريق أكل خضراوات وفاكهة ملوثة من التربة في حاله عدم غسلها بشكل جيد.

أعراض المرض

في الأطفال المصابون بالسالمونيلا تبدأ ظهور الأعراض في فترة من ٦ إلى ٧٢ ساعة وتحدث ألام، وتقلصات بالبطن وقيء وإسهال مائي وأحيانا يكون مدمماً، وارتفاع في درجة الحرارة، ولكن نادرا ما يتعدى ٣٩ درجة مئوية، وتختفي الأعراض خلال فترة تتراوح من ٣ إلى ٧ أيام.

وفي حالات الحمى التيفودية، يكون هناك فترة حضانة للميكروب نحو من ٣ أيام إلى شهرين، لكن الأعراض تظهر في حدود أسبوعين، ويحدث ارتفاع في درجة الحرارة في شكل متصاعد وأعراض أخرى تشمل فقدان الشهية والشعور بالضيق والصداع وألام في العضلات وألام بالبطن وإسهال وأحياناً إمساك، وفي بعض الحالات يمكن حدوث مضاعفات تجعل الطفل يشعر بالهذيان، ومن المضاعفات التي يمكن أن تحدث أيضاً تكرار التعرض للإصابة مره أخرى في فترة من ١ إلى ٤ أسابيع.

التشخيص يتم تشخيص المرض من خلال:

- تدقيق التاريخ المرضي، وإذا كان الطفل يقتنى حيوانات أليفة يمكن أن ينتقل المرض إليه من خلالها، ويتم السؤال أيضاً عما إذا كان أحد أفراد الأسرة سبق تعرضه لنزلة معوية مؤخرا.
- وبالنسبة للكشف الإكلينيكي (في حاله السالمونيلا)، يمكن أن يظهر بعض علامات الجفاف (نتيجة للإسهال)، مثل جفاف الأغشية المخاطية في الفم والعينين الغائرتين، وكذلك الجلد الجاف.

بالنسبة للكشف الإكلينيكي (في حاله الحمى التيفودية)، تكون من أهم العلامات المميزة هي بطء نبضات القلب في تناسب عكسي مع ارتفاع درجة الحرارة، حيث أنه من المعروف أن الارتفاع في درجات الحرارة يزيد بالضرورة من نبضات القلب، وأيضا يوجد تضخم في الطحال والكبد، ويمكن أيضاً حدوث نوع من الطفح الجلدي في مقدمة القفص الصدري يكون لونه وردي، ويتكون في مجموعات نحو من ٥ إلى ١٥ مجموعة وفي الأغلب يختفي هذا الطفح في خلال ٣ أو ٤ أيام.

- يتم عمل صورة دم كاملة وبالنسبة لمرضى الحمى التيفودية في الأغلب تظهر أنيميا في التحليل.
- يتم عمل تحليل براز.
- يتم فصل ميكروب السالمونيلا من خلال عمل مزرعة دم أو بول أو براز.
- يتم عمل تحليل لمعرفة إذا كان نوع الإصابة بميكروب السالمونيلا تيفي، وهذا التحليل يسمى (تحليل فيدال) **Widal test** ، ولكن التوصيات الحديثة توصي بعدم الاعتماد عليه فقط، حيث أن نسبة الخطأ فيه سواء بالإيجاب أو السلب كبيرة.

علاج الإصابات المعوية

في حالات الإصابة البسيطة غير المسببة للتيفود وللطفل السليم الذي لا يعاني من أمراض مزمنة لا يتم إعطاء مضاد حيوي، حيث أن المرض يتلاشى من تلقاء

نفسه، ولا يقوم المضاد الحيوي بدور فاعل في تقصير مدة الإصابة، ولكن يتم إعطاء سوائل لتفادي خطر الجفاف الناتج من الإسهال وحتى الأدوية التي تعالج الإسهال لا يكون لها دور في وقف الإسهال ويستحسن عدم استخدامها.
ويتم الحجز في المستشفى والعلاج بالمضادات الحيوية بالنسبة للأطفال تحت عمر ٣ شهور، أو بالنسبة للأطفال أقل من عمر سنة ودرجة حرارتهم تزيد على ٣٩ درجة مئوية، أو بالنسبة للأطفال المرضى بمرض الإيدز أو بأورام خبيثة.
وبالنسبة للمرضى الذين تصل الإصابة بالميكروب فيهم إلى الدورة الدموية يتم إعطاء مضاد حيوي واسع المجال لمده تبلغ أسبوعين، وبالنسبة لمرضى الإيدز أو الذين يعانون من مرض يؤثر على المناعة يتم إعطاء المضادات الحيوية لمدة تتراوح من ٤ إلى ٦ أسابيع.

علاج الحمى التيفودية

١. بالنسبة لميكروب السالمونيلا تيفيTyphi ، يتم استخدام مضاد حيوي واسع المجال مثل عقار السيفاترايكسونCeftriaxone ، وفي حالة وجود مقاومة يتم استخدام عقار الكلورمفينكول أو الإمبسيللين.
٢. يجب استخدام مخفضات الحرارة بحذر، إذ أنه من المعروف أن الحرارة يمكن أن تستمر مرتفعة من ٥ أيام إلى أسبوع تقريباً حتى مع استخدام علاج مناسب.
٣. تكرار الإصابة وارد في نحو ١٥ في المائة من الحالات وفي حالة حدوثه يجب البدء مجددا في العلاج.
٤. يمكن استخدام جرعات كبيرة من الكورتيزون لفترة وجيزة في المرضى الذين يعانون من مضاعفات في الجهاز العصبي.

ومما هو جدير بالذكر أن حفظ الأغذية على درجات الحرارة المنخفضة يمنع تكاثر الميكروب ولكن لا تقتله، وعموماً فإن تطبيق الشروط الصحية بالنسبة للماء والأغذية وعدم مخالطة المرضي يعتبر من أهم الأمور الواجب مراعاتها لتلافي الإصابة بالحمي المعوية (التيفودية والباراتيفودية) .

الكوليرا Cholera

تعتبر الإصابة بالكوليرا من الإصابات الحادة التى قد تؤدى إلى الوفاة . والميكروب المسبب لهذا المرض هو ***Vibrio cholera*** ، وخلايا هذا الميكروب عصوية منحنية وواوية سالبة لصبغة جرام ، وفترة الحضانة تتراوح من ٢–٣ أيام غالباً تنتهي بالوفاة إذا لم يتم معالجة المريض.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Vibrionales

Family:Vibrionaceae

Genus: ***Vibrio***

Species: ***V. cholerae***

والكوليرا تعرف أحياناً باسم الكوليرا الأسيوية أو الكوليرا الوبائية، هي الأمراض المعوية المعدية التي تسببها بكتريا الكوليرا المنتجة للسم المعوي، وتنتقل البكتريا إلى البشر عن طريق تناول طعام أو شرب مياه ملوثة ببكتريا الكوليرا من مرضى كوليرا أخرين، ولقد كان يفترض لفترة طويلة أن الإنسان هو المستودع الرئيسي للكوليرا، ولكن تواجدت أدلة كثيرة على أن البيئات المائية يمكن أن تعمل كمستودعات للبكتريا.

بكتريا الكوليرا تنتج توكسين معوي يعمل على تبطين الأغشية المخاطية للأمعاء الدقيقة، وهذه العملية هي المسؤولة عن هذه السمة الأكثر ظهورا للمرض ، الكوليرا هي واحدة من أسرع الأمراض القاتلة المعروفة، وقد ينخفض ضغط الدم في الشخص السليم إلى مستويات انخفاض الضغط في غضون ساعة من بداية ظهور أعراض المرض؛ وقد يموت المرضى المصابين في غضون ثلاث ساعات إذا لم يتم

تقديم العلاج الطبي.

وفي السيناريو الشائع، يتطور المرض من البراز السائل أولاً إلى صدمة في غضون من ٤ إلى ١٢ ساعة، ملحقاً بالوفاة في غضون من ١٨ ساعة إلى عدة أيام، ما لم يقدم العلاج الإماهي عن طريق الفم (أو في الوريد، في الحالات الأكثر خطورة)

معظم حالات الكوليرا المبلغ عنها في جميع أنحاء العالم تحدث في أفريقيا، فمن المقدر أن معظم حالات الكوليرا المبلغ عنها هي نتيجة لسوء نظم الترصد، وبخاصة في أفريقيا، ويقدر معدل الوفيات بنسبة ٥ ٪ من مجموع الحالات في أفريقيا وأقل من ١ ٪ في الأماكن أخرى.

وعلى الرغم من تهديد وباء الكوليرا للحياة، فعادة ما تكون الوقاية من هذا المرض واضحة إذا ما تم اتباع ممارسات صحية سليمة، ففي العالم الأول وبسبب تقدم معالجة المياه والممارسات الصحية لم تعد الكوليرا تمثل تهديدا صحياً كبيرا، وقد وقع أخر تفشي كبير لوباء الكوليرا في الولايات المتحدة في ١٩١٠- ١٩١١ م، وينبغي على المسافرين إدراك كيفية انتقال المرض وما يمكن القيام به لمنع ذلك، فعادة ما يكون وضع والتقيد بالممارسات الصحية الفعالة في الوقت المناسب كافياً لوقف هذا الوباء، وهناك عدة نقاط على المسار الانتقالي لوباء الكوليرا والتي ربما (ينبغي) عندها إيقاف انتشار هذا الوباء:

مياه المجاري: يعتبر العلاج المضاد للبكتريا الموجودة بمياه المجاري العامة بواسطة الكلور والأوزون والأشعة فوق البنفسجية أو غيرها من أشكال المعالجة الفعالة قبل أن تدخل إلى المجاري المائية أو إمدادات المياه الجوفية.

مصادر المياه: ينبغي نشر تحذيرات حول احتمال حدوث تلوث بسبب وباء الكوليرا حول مصادر المياه الملوثة مع تعليمات حول كيفية تطهير المياه (الغليان، وما إلى ذلك بالكلور) للاستخدام المحتمل.

تنقية المياه: ينبغي تعقيم المياه المستخدمة للشرب والغسيل والطهي بواسطة

الغليان، المعالجة بالكلور، معالجة المياه بالأوزون، التعقيم بالأشعة فوق البنفسجية أو الترشيح باستخدام المرشحات البكتيرية في أي منطقة قد يتواجد بها وباء الكوليرا، وغالباً ما تكون المعالجة بالكلور والغليان أقل تكلفة وأكثر الوسائل فعالية لوقف انتقال العدوى، وعلى الرغم من بدائية فلتر القماش، إلا أنه أدى إلى انخفاض كبير في حدوث وباء الكوليرا، عند استخدامه في القرى الفقيرة التي تعتمد على المياه السطحية غير المعالجة.

ويتوافر في بعض البلدان لقاح لمرض كوليرا، ولكن لا يوصى الأن بالاستخدام الوقائي الروتيني من قبل مراكز السيطرة على الأمراض والوقاية، وخلال السنوات الأخيرة، تم إحراز تقدماً ملموساً في تطوير لقاحات فموية جديدة لمكافحة وباء الكوليرا، ويوجد الأن لقاحان فمويان ضد الكوليرا قد تم تقييمهما بواسطة متطوعين من البلدان الصناعية ومن مناطق الكوليرا المتوطنة، وهما متوافران تجارياً في عدة بلدان أحدهما يتكون من خلية مقتولة بالكامل لبكتريا الكوليرا O1 في تركيبة وحدات منقاه من سم الكوليرا ولقاح فموي موهن حي، والذي يحتوي على سلالة بكتريا الكوليرا O1 المعدلة وراثياً .

قابلية الإصابة

تشير أحدث البحوث الوبائية إلى أن حساسية الفرد للتعرض لمرض الكوليرا وغيرها من العدوى الإسهالية تتأثر بنوع الدم، فالأكثر عرضة هم ذوي فصيلة الدم O، في حين أن الأكثر مقاومة للمرض هم ذوي فصيلة، AB وبين هذين النقيضين هناك أنواع الدم A وB حيث أن فصيلة A أكثر مقاومة من فصيلة B.

ويلاحظ زيادة إمكانية التعرض في الأشخاص الذين لديهم نظام مناعة ضعيف، والأفراد المصابون بانخفاض حموضة المعدة أو أولئك الذين يعانون من سوء التغذية.

انتقال المرض

يعاني المصابون بالكوليرا من الإسهال الحاد، هذا الإسهال ذو السيولة العالية يشار إليه بالعامية باسم "براز ماء الأرز"، وهو يحمل البكتريا التي يمكن أن تصيب المياه المستخدمة من قبل أشخاص أخرين، وتنتقل الكوليرا من شخص إلى أخر عن طريق شرب المياه الملوثة ببكتريا الكوليرا، وعادة ما تكون من البراز أو غيرها من النفايات السائلة، وعادة ما يكون مصدر التلوث هو مرضى الكوليرا، حيث يتم السماح لمخرجات الإسهال بالوصول إلى مجاري المياه أو إلى المياه الجوفية أو إمدادات مياه الشرب، ويمكن للماء الملوث وأي أطعمة تم غسلها في الماء، وكذلك المحار الذي يعيش في المجري المائي المصاب أن يسبب العدوى، ونادرا ما ينتشر وباء الكوليرا بشكل مباشر من شخص إلى أخر، وتتواجد بكتريا الكوليرا بشكل طبيعي في العوالق الحيوانية للماء العذب قليل الملوحة والمالح، حيث تعلق في المقام الأول في الهيكل الكيتيني الخارجي، وتوجد سلالات سامة وغير سامة، وتفشى الكوليرا الساحلية عادة ما يتبع تفتح العوالق الحيوانية مما يجعل الكوليرا مرضا حيواني المنشأ.

الوقاية من الإصابة بالكوليرا

١. العناية بالنظافة العامة.
٢. التأكد من تطهير مياه الشرب .
٣. عزل المرضى والتخلص من فضلاتهم بطريقة صحية .
٤. غسل الخضر والفواكه جيداً قبل أكلها.
٥. مكافحة الذباب .
٦. التحصين ضد المرض ولاسيما في المناطق التي يستوطن فيها المرض.
٧. توعية المسافرين إلى المناطق الموبوءة بخطورة المرض.
٨. التأكيد على النظافة الشخصية دائماً مثل غسل الأيدي بعد قضاء الحاجة وقبل الأكل أو عند تحضير وتقديم الطعام.

علاج الكوليرا Cholera medication

يمكن علاج معظم حالات الكوليرا بنجاح بواسطة المعالجة بالإمهاء الفموي (إعطاء المحاليل)، ويعتبر الاستبدال الفوري للمياه هو العلاج الرئيسي لمرض الكوليرا، بسبب سرعة حدوث الجفاف، وتعتبر المعالجة بالإمهاء الفموي (أو أر تي ORT) فعالة للغاية وأمنة وسهلة التطبيق، أما في الحالات التي يكون بها كيس الطبيب (أو أر تيORT) المنتج تجارياً باهظ الثمن أو صعب الحصول عليه، فهناك حلول بديلة منزلية الصنع باستخدام الصيغ المختلفة للمياه والسكر وملح الطعام، وصودا الخبز، والفاكهة والتي تعتبر وسائل ذات تكلفة، وفي حالات الكوليرا الشديدة مع حدوث جفاف خطير، قد يكون تطبيق حلول الإماهة عن طريق الوريد ضرورياً.

تعمل المضادات الحيوية على تقصير مسار المرض، والحد من شدة أعراضه، ومع ذلك يظل العلاج بالإمهاء الفموي هو العلاج الرئيسي. وعادة ما يستخدم التتراسيكلين كمضاد حيوي أساسي، على الرغم من أن بعض سلالات بكتريا الكوليرا أظهرت وجود مقاومة، وتشمل المضادات الحيوية الأخرى التي قد ثبت أنها فعالة ضد بكتريا الكوليرا الكوتريمازول، الإريثروميسين، الدوكسيسيكلين، الكلورامفينيكول، والفورازوليدون. ويمكن استخدام الفلوروكينولون مثل نورفلوكساسين أيضاً، ولكن تم الإبلاغ عن بعض المقاومة له، ويتأثر نجاح العلاج كثيرا بسرعة وطريقة العلاج، فإذا تم علاج مرضى الكوليرا بسرعة وبشكل صحيح يصبح معدل الوفيات أقل من ١ ٪، ولكن مع عدم علاج الكوليرا يرتفع معدل الوفيات إلى ٥٠-٦٠ ٪.

فيروس التهاب الكبد الوبائي النوع Hepatitis A

فيروس التهاب الكبد الوبائي النوع A يسبب التهاب كبدي حاد يصيب الكبد نتيجة الإصابة بفيروس الالتهاب الكبدي HAV ، كثير من الحالات لديهم أعراض قليلة أو معدومة خصوصاً في السن الصغير، المدة بين العدوى حتى ظهور الأعراض تتراوح ما بين أسبوعان إلى ستة أسابيع.

Virus classification

Group: IV (+) ssRNA

Order: Picornavirales

Family: Picornaviridae

Genus: *Hepatovirus*

Species: *Hepatovirus A*

الأعراض الأولى للمرض تتشابه مع أعراض الإنفلونزا، وبعض المرضى وخاصة الأطفال قد لا تبدو عليهم أية أعراض على الإطلاق، تظهر الأعراض عادة خلال ٢-٦ أسابيع من التعرض للفيروس، تشمل الأعراض التعب والإرهاق والحمى، ألام البطن، الإسهال القيء، فقدان الشهية للطعام، اليرقان (صفار لون الجلد العين، فقدان الوزن، الاكتئاب، حوالي ١٠-١٥ % من الناس تعاني من تكرار الأعراض خلال ستة أشهر بعد الإصابة الأولى.

وعلى مستوى العالم هناك حوالي ١,٥ مليون حالة تظهر عليها الأعراض كل عام، وهو أكثر شيوعاً في مناطق العالم ذات الصرف الصحي السيء وعدم كفاية المياه الصالحة للشرب، في العالم النامي حوالي ٩٠ % من الأطفال تصيبهم العدوى حتى سن العاشرة وبذلك يكتسبون المناعة عند سن البلوغ، وغالباً ما يحدث في شكل تفشي للمرض في الدول المتقدمة نوعاً حيث لا يتعرض الأطفال للإصابة وهم صغار وليس هناك تطعيم واسع النطاق.

نشوء المرض Pathogenesis

عادة ما ينتشر عن طريق الأكل أو الشرب لطعام أو ماء ملوث بالبراز المعدي ونادراً ما ينتقل عن طريق الدم ، كما تنتقل العدوى عن طريق تناول الطعام غير المطهي كبعض الأطعمة التي تأكل نيئة مثل المحار والخضروات والفواكه التي تؤكل بدون تقشير، أو بعد غسيل الطعام بماء ملوث، وتنتشر العدوى عادة من شخص إلى شخص عن طريق الأكل والشرب الملوثين بهذا الفيروس من شخص مصاب به، بعد ابتلاع المواد الملوثة بالفيروس ينتقل الفيروس عبر الطبقة الطلائية المبطنة

للبلعوم أو الأمعاء وتعبر من خلاله إلى الدم، وعبر الدم تنتقل إلى الكبد حيث تستقر في خلايا الكبد وتتكاثر داخل هذه الخلايا، نتيجة لذلك تصبح هذه الخلايا عرضة لهجوم الخلايا المناعية، ثم يتم طرح كميات كبيرة من الفيروس عبر العصارة الصفراوية ومنها إلى البراز وهكذا يصبح المصاب ناقلاً للمرض، تمتد فترة حضانة المرض ما بين ١٥ إلى ٥٠ يوماً وتستمر الأعراض من أسبوع إلى أسبوعين، احتمالية الوفاة نتيجة الإصابة بالمرض هي أقل من ٠,٥%، لا يسبب التهاب الكبد الوبائي A ضرراً دائماً للكبد وغالبا ما تمنح الإصابة بالتهاب الكبد الوبائي A مناعة مدى الحياة، حيث ينتج الجهاز المناعي الأجسام المضادة التي توفر الحصانة من المرض لاحقاً.

التشخيص Diagnosis

يتم تشخيص الحالة سريرياً من خلال الأعراض وقد يلجأ الطبيب إلى التحليل المعملي لتأكيد أو نفي الإصابة، يقوم التحليل بالكشف عن وجود الأجسام المضادة (جلوبينات M) أو IgM لفيروس التهاب الكبدA في الدم، وجود الأجسام المضادة (جلوبينات G) أو (IgG لفيروس التهاب الكبد A في الدم يعني حصول مناعة للجسم ضد هذا الفيروس ويكون ذلك عقب الإصابة به أو عقب أخذ اللقاح، خلال الالتهاب ترتفع نسبة إنزيمات الكبد في الدم وذلك نتيجة تدمير خلايا الكبد المصابة من قبل الخلايا المناعية.

طرق علاج الاتهاب الكبد الوبائي A

Medication methods of Hepatitis A

لا يوجد علاج محدد لالتهاب الكبد الوبائي A وعادة ما تنحسر الأعراض من تلقاء نفسها خلال ١٠-٢٠ يوماً من ظهور الأعراض، عادة ما تنتهي العدوى تماماً وبدون حدوث أمراض للكبد.

ينصح المرضى بالابتعاد عن الأغذية كثيرة الدهون والكحول والإكثار من الأغذية السكرية والسوائل، وأفضل طرق الوقاية هي التطعيم الذي يعطي لجميع

الأطفال ضمن جدول التلقيحات الاعتيادية، كما أنه من المهم للحد من انتشار هذا المرض في المجتمع تجنب استعمال الحقن الملوثة بالفيروس واتباع الاجراءات السليمة في نقل الدم وفي أي أنشطة أخرى تحمل خطر انتقال الدم المصلب مثل صالونات الحلاقة والوشم وثقب أجزاء الجسم.

الوقاية من التهاب الكبد الوبائي Protection from Hepatitis A

١.يمكن تجنب التهاب الكبد الوبائي A عن طريق اللقاح، ويتوفر لقاح واقي من التهاب الكبد الوبائي A يحتوي على فيروس مثبط ويقي من ٩٥% من الحالات لمدة ١٠ سنوات، استخدم لأول مرة عام ١٩٩٦م على الأطفال الأكثر عرضة للفيروس والمصابين بأمراض نقص المناعة، يعطى الفيروس على شكل حقنتين في الجزء العلوي من اليد داخل العضل، الجرعة الأولى تمنح مناعة لمدة ٢ إلى ٤ أسابيع، وتعطى الجرعة الثانية بعد ٤-٦ أشهر من الجرعة الأولى وتمنح مناعة تصل إلى ٢٠ عاماً.

٢.النظافة والصرف الصحي الجيد.

٣.تعقيم مصادر مياه الشرب.

٤.المحافظة على النظافة العامة.

٥.غسل اليدين بشكل دائم بعد استخدام الحمام.

٦.تجنب تناول الأغذية غير المطهية والحرص على غسل الخضروات والفواكه.

٧.يتم تدمير الفيروس عند تعرضه لحرارة ٨٥ درجة مئوية لمدة دقيقة ويمكن قتله في ماء الشرب بإضافة الكلورين.

مرض شلل الأطفال Poliomyelitis

Virus classification

Group: Group IV :(+) ssRNA

Order: Picornavirales

Family: Picornaviridae

Genus: ***Enterovirus***

Species: ***Enterovirus C Subtype: Poliovirus***

فيروس شلل الأطفالpoliovirus) (هو فيروس معوي بشري وهو أحد أعضاء عائلة الفيروسات البيكورناوية.

طرق انتقال العدوى Methods of disease transmission

هو فيروس شديد العدوى ينتقل من شخص إلى أخر عبر عدة طرق تشمل التواصل المباشر بين شخص مصاب وأخر سليم، وعبر المخاط والبلغم من الفم والأنف، وعن طريق البراز الملوث، بالإضافة إلى الطعام والماء الملوثين بالفيروس. يدخل الفيروس الجسم عبر الفم أو الأنف، ثم يتكاثر في الحلق والأمعاء وبعدها يتم امتصاصه إلى الجسم وينتقل عبر الدم إلى باقي أجزائه، وفي العادة فإن فترة حضانة الفيروس (المدة الزمنية من دخوله الجسم إلى بدء ظهور الأعراض) هي ما بين ٥ و ٣٥ يوماً ولكنها في المتوسط من أسبوع إلى أسبوعين.

ومنذ أواخر ثمانينيات القرن الماضي انحسرت الإصابات بالمرض عالمياً بسبب تطعيم الأطفال بنسبة أكثر من ٩٩%، ولكنه ما زال موجوداً في بعض الدول مثل أفغانستان وباكستان والهند ونيجيريا، كما أشارت بيانات حديثة لمنظمة الصحة العالمية إلى احتمال ظهور حالات منه في سوريا.

والفيروس ينتقل في العادة عبر الفم إلى الجسم حيث يتكاثر في الأمعاء، ثم ينتقل أولاً إلى العقد اللمفاوية ثم ينتقل من الغدد اللمفاوية مع الدم إلى جميع انحاء الجسم، في حاله انتشار الفيروس في الجسم يصل أيضاً إلى النخاع الشوكي ، حيث يهاجم الخلايا العصبية في القرن الامامي للنخاع الشوكي (الخلايا المسئولة عن حركة العضلات) ،الجهاز المناعي يستجيب لهذه العدوى من خلال انتقال خلايا كرات الدم البيضاء إلى الحبل الشوكي ، حيث تلتهب الخلايا وتدمر ، والنتيجة من هذا الالتهاب تكون أكثر أو أقل وضوحاً حسب الخلايا التي تدمرت ، وغالباً ما يكون هذا مقروناً بشلل رخو في الساقين (الإحساس في الساقين غير متأثر لأن الخلايا

المسئولة عن الإحساس في القرن الخلفي للحبل الشوكي قد تدمرت)، بالإضافة إلى إصابة الحبل الشوكي فإنه في أغلب الأحيان يصاب أيضاً الدماغ ، في هذه الحالة يتم التحدث عن Poliomyeloencephalitis خاصة في منطقة المخيخ ، والجسم يظهر بشكل معتاد خلايا التهابية (مسببة الالتهابات) وضمور الخلايا العصبية، إلا أنها نادراً ما تسبب أعراض مرضية، فقط خلايا القرن الأمامي الشوكي وخلايا في العصب الدماغي التاسع والعاشر تكون غالباً متأثرة بالفيروس مما يسبب الأعراض المعروفة لدى المصابين بشلل الأطفال ، في حاله إصابة خلايا العصب الدماغي التاسع والعاشر تتأثر وظيفة الحنجرة مما يسبب صعوبة في الكلام والبلع وأحيانا صعوبة في التنفس .

التشخيص Diagnosis

غالباً ما يشخص المرض بأعراضه السريرية مثل تشنج الرقبة والظهر، صعوبات البلع، وللتأكد من الإصابة يمكن أخذ عينة من البراز أو مفرزات البلعوم أو السائل النخاعي الشوكي وتحليلها ثم تظهر النتائج ما إذا كان الشخص حاملاً للفيروس من عدمه.

أعراض وعلامات الإصابة بشلل الأطفال

بعد دخول الفيروس إلى الجسم هناك ثلاثة مسارات لتطور المرض هي:

المرحلة الأولي وفيها لا يُظهر المصاب أعراضاً واضحة، أو تظهر عليه أعراض طفيفة نسبياً، وبالتالي فربما لا يعلم إصابته بالفيروس، وتشمل هذه الأعراض الحمى الخفيفة وألم في الحلق واحمراره والشعور بالتعب والقيء، وقد تستمر هذه الأعراض مدة ٧٢ ساعة أو أقل، ثم تظهر الأعراض غير الشللية، وهنا يكون مسار المرض أقوى ولكنه لا يؤدي إلى الشلل، وتشمل أعراضه نفس أعراض المرحلة الأولي ولكن بشكل أكثر حدة، بالإضافة إلى ألم في العنق والظهر والذراعين والقدمين، وتشنج العضلات والتهاب السحايا، وأخيرا تظهر الأعراض الشللية حيث يصاب حوالي ١% من المصابين، ويتضمن هذا النوع إصابة النخاع الشوكي أو

الدماغ أو كليهما معا، وينتهي هذا النوع بحدوث شلل لدى المصاب، وتشمل أعراضه فقدان الانعكاسات (رد الفعل المنعكس)، ألماً وتشنجاً حاداً في العضلات، ورخاوة في الأطراف ناجمة عن فقدان السيطرة عليها حيث تبدو متدلية ورخوة.

مضاعفات مرض شلل الأطفال

- حدوث إعاقة مؤقتة أو دائمة.
- الالتهابات الرئوية.
- قصور عضلة القلب والتهابها.
- اضطرابات في وظيفة الأمعاء.
- التهابات المسالك البولية.
- في بعض الحالات قد يؤدي إلى الموت وعادة ما يكون نتيجة قصور عمل الرئتين.

الوقاية من الإصابة بشلل الأطفال

Protection from Poliomyelitis

يعتبر التطعيم السلاح الأساسي للوقاية من المرض، ويتم عبر إعطاء الشخص فيروسات المرض التي تم عدم تفعيلها، وبالتالي أصبحت غير قادرة على التسبب في الأذى للشخص، لكنها كافية لتحفيز جهاز المناعة على تكوين أجسام مضادة تتعرف على الفيروس عند حدوث الإصابة وتهاجمه وتقضي عليه، ولقد تمكنا العالمان يوناس سولك وبعده ألبرت سابين من اكتشاف لقاح ضد شلل الأطفال الذي يعتبر أحد أهم الاكتشافات الطبية في تاريخ الطب.

والتطعيمات الخاصة بالمرض عبارة عن خمس جرعات تعطى على النحو التالي:

- الجرعة الأولى عند عمر خمسة وأربعين يوماً.
- الجرعة الثانية عند عمر ثلاثة أشهر.
- الجرعة الثالثة عند عمر خمسة أشهر.
- الجرعتان الأخيرتان في عمر سنة ونصف والأخيرة بعد الأربع سنوات.

وفي حالة انتشار المرض أو في حال الاشتباه يتم إعطاء جرعتين منشطتين من اللقاح بفاصل شهر بين الجرعتين لجميع الأطفال دون الخامسة من العمر بغض النظر هل سبق تطعيمهم أم لا.

لقاح جديد لمكافحة مرض شلل الأطفال

بعد أن أثبت اللقاح القديم نجاحه خلال ثلاثين عام تم ابتكار لقاح جديد في بدايات ٢٠١٦ م لا يعتمد هذه المرة على نسخة مخففة من النوع الثاني لشلل الأطفال الذي تم القضاء عليه بشكل كامل في بدايات الألفية الثالثة والتحول لاستخدام اللقاح الجديد سيتم في ١٥٥ دولة حيث سيتم استخدام اللقاح الجديد بشكل أساسي في دول نامية، لكن هناك دول أخرى أكثر ثراء ستستخدمه مثل روسيا والمكسيك.

وسيقدم اللقاح للمرضى أيضاً كجرعات عن طريق الفم، ولذا فإن موظفي الصحة لن يحتاجوا لتدريبات جديدة، ولقد قال الدكتور ستيفن كوتشي من مركز السيطرة على الأمراض والوقاية منها بالولايات المتحدة الأمريكية إن اللقاح الحالي يحتوي على فيروس مخفف نشط يتعلق بثلاثة أنواع من شلل الأطفال، لكننا لا نحتاج إلى مركب النوع الثاني، لأنه لم يعد موجودا في العالم، وفي حالات نادرة جدا فإنه (النوع الثاني من الفيروس) قد يتحور ويؤدي إلى الإصابة بشلل الأطفال من خلال ما يعرف بنشر الفيروس المشتق من اللقاح، لذلك فإن إزالة النوع الثاني من اللقاح تستبعد هذه المخاطرة، وتضمن أن لدينا لقاحاً سيكون فعالاً أكثر على شكل جرعات وشملت الخطة المتعلقة بالانتقال للقاح الجديد التعامل مع مخزون عالمي يقدر بـ١٠٠ مليون جرعة من اللقاح تستهدف فقط النوع الثاني والتي خزنت كإجراء احترازي في حال تفشي شلل الأطفال، ونفت منظمة الصحة العالمية بعض التقارير الإعلامية التي أشارت إلى ضرورة تدمير "الملايين" من جرعات اللقاح القديم من خلال الحرق أو غيرها من الوسائل المعتمدة، ووفقاً لتصريحات رئيس منظمة الصحة العالمية والذي يقول لقد اقتربنا أكثر مما سبق من القضاء على شلل

الأطفال على مستوى العالم، ولهذا السبب فإننا قادرون على المضي قدماً في أكبر وأسرع عملية انتقال متزامن لاستخدام لقاح جديد على مستوى العالم.

طرق علاج شلل الأطفال Medication methods

لا يوجد علاج شافي لشلل الأطفال، حيث يكون التركيز في العلاجات الحديثة على تخفيف الأعراض وتسريع الشفاء واتقاء المضاعفات، وتشمل التدابير الداعمة للمضادات الحيوية لمنع العدوى في العضلات الضعيفة، مسكنات الألم، ممارسة الرياضة باعتدال واتباع نظام غذائي متكامل، علاج شلل الأطفال غالباً ما يتطلب إعادة التأهيل على المدى الطويل بما في ذلك العلاج الطبيعي والسنادات والأحذية الخاصة وفي بعض الأحيان العمل الجراحي، في حالة الإصابة بالمرض أو الاشتباه بالإصابة يتم التبليغ الفوري عن الحالات ومن ثم العزل بالمستشفيات وإعطاء العلاجات اللازمة للحالات المرضية، كذلك تتم عملية التطهير المستمر لإفرازات ومتعلقات المريض، أما المخالطين للمريض فيتم حقنهم بعقار جاما جلوبيولين خصوصاً الأطفال دون الخامسة ومتابعة حالاتهم الصحية حتى يثبت عدم إصابتهم بالمرض.

الحمى الباراتيفودية Paratyphoid fever

هو مرض تسببه بكتريا *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Enterobacteriales

Family:Enterobacteriaceae

Genus:*Salmonella*

Species:*Salmonella enterica* serovar Typhimurium

أعراض المرض Symptoms

١.حدوث ارتفاع مستمر في درجة الحرارة.

٢.صداع مع الم بالبطن بصحبه إسهال دموي.

٣. فقدان الشهية.

٤.حدوث سعال جاف وإمساك وقد يحدث إسهال.

طرق انتقال المرض Transmission methods

ينتقل المرض بواسطة طعام أو ماء ملوثين ببراز أو بول شخص مصاب أو حامل للميكروب، دور الحضانة من ١ - ٣ أسابيع حسب شدة الإصابة.

مضاعفات الحمى الباراتيفودية

١-ثقب ونزيف بالجهاز الهضمي.

٢-التهاب مزمن في العظام.

٣-التهاب مزمن في الحوصلة المرارية.

٤-التهاب في عضلة القلب.

٥-التهاب سحائي في المخ.

٦- التهاب في الكليتين.

طرق العلاج Medication methods

يتلخص العلاج في اتباع الخطوات الأتية:

١- إعطاء المريض السوائل والمحاليل التعويضية إذا اقتضت الضرورة.

٢-التغذية الجيدة، وخصوصا السوائل والفواكه الطازجة.

٣-عقار السيروفلوكساسين أو العقارات المشقة من مجموعة الفلوروكينولون، ولكن هذه الأدوية لا يجب إعطاؤها للأشخاص تحت ١٨ سنة أو للسيدات الحوامل أو المرضعات.

٤-عقار الكلورامفينيكول وهو أقدم الأدوية المستعملة لعلاج الحمى التيفودية.

٥-عقار السيفوتاكسين، وعقار الأزيسروميسين، وعقار الأموكسيسيللين، ويسمح

بها في كل الأعمار.

٦-في حالة إصابة المخ بالميكروب يجب إضافة عقار الدكساميسازون (مشتق من الكورتيزون.

ويجب التنويه إلي أن هذه الأدوية لها دواعي استعمال ونواهي استعمال ومضاعفات واحتياطات ومحاذير فلا يجب تناولها إلا تحت إشراف الأطباء المتخصصين.

طرق الوقاية من الحمى الباراتيفودية

من أهم طرق الوقاية لمنع انتشار المرض هي التركيز على التحكم في نظافة وصحة الماء والغذاء، والصحة الفردية والنظافة الشخصية، حيث كان هذا المرض ولا زال يدعى مرض الأيدي القذرة حيث ينتقل المرض مباشرة باستعمال حاجات المريض الشخصية الملوثة، أو عن طريق تناول الأطعمة المكشوفة والفواكه والخضروات غير المغسولة جيدا والتي قد تكون ملوثة بالجراثيم.

الدوسنتاريا (الزحار) Dysenteriae

مرض ينتقل من الإنسان إلى الإنسان، تسببه بكتريا عصوية قصيرة سالبة لصبغة جرام قد تكون من النوع *Shigella shiga* و*Shigella dysenteriae* أو كلاهما معا تنتقل عن طريق الماء والطعام، وهو يصيب الأمعاء ويتصف بالإسهالات المترافقة بالدم والصديد والمخاط ، كما أن مرض الدوسنتاريا ينتشر بسرعة ويصيب مجموعات كبيرة من الناس في وقت واحد كالتجمعات المدرسية، حيث يكون الطعام والشراب المشترك بين هذه الفئات مصدرا جماعيا للعدوى.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Enterobacteriales

Family:Enterobacteriaceae

Genus: ***Shigella***

S. dysenteriae ***S. shiga***

ما هي الدوسنتاريا ؟

يشير الزحار (الدوسنتاريا) إلي نطاق واسع من الاضطرابات في الجهاز الهضمي المعدية التي تتميز بالتهاب الأمعاء ، وعلى رأسها القولون ، ومنظمة الصحة العالمية تعرف الزحار مثل أي حلقة من الإسهال بحيث يتواجد البراز مع الدم ، وينتشر الزحار بين البشر عن طريق الطعام والمياه الملوثة بمجرد إصابة الشخص الكائن المعدي يعيش في الأمعاء ويتم تمريره في البراز من شخص مصاب مع بعض الالتهابات، ويمكن أيضاً أن تكون الحيوانات هي المصابة وينتشر المرض إلى البشر.

تتضمن الأسباب البكتيرية الشائعة من الدوسنتاريا العدوى ببكتريا الشيجيلا ، ويرتبط الزحار مع الظروف البيئية حيث سوء الصرف الصحي هو السائد على سبيل المثال، ويمكن لعلامات وأعراض الدوسنتاريا ان تستمر من خمسة إلى سبعة أيام أو حتى لفترة أطول ، مسار المرض يختلف بين الأفراد كما تفعل الأعراض ، بعض الناس يعانون من الزحار لديهم أعراض خفيفة ، في حين أن البعض الأخر قد يكون الإسهال الشديد مع أو بدون قيء الذي يمكن أن يشكل خطر الجفاف لحسن الحظ ، يمكن علاج الدوسنتاريا مع المضادات الحيوية والأدوية المضادة للطفيليات.

ومرض الدوسنتاريا إذا لم يعالج يمكن أن يؤدي إلى الجفاف الشديد ، ويمكن للجفاف أن يؤدي الى اختلالات شديدة ويؤدي إلى صدمة أو غيبوبة ويمكن أن تكون مهددة للحياة ، يجب التماس الرعاية الطبية إذا كان المريض يعاني من أعراض الجفاف الشديد مثل الارتباك ، الخمول ، فقدان الوعي ، الجلد البارد ، أو انخفاض كمية البول .

ما هي أعراض الدوسنتاريا ؟

الزحار يسبب تهيج والتهاب الأمعاء الذي قد ينجم في عدد من الأعراض ، الأعراض يمكن أن تختلف في شدتها بين الأفراد.

الأعراض الشائعة:

ترتبط الأعراض الأكثر شيوعا من الزحار إلى اضطرابات في الجهاز الهضمي ، وتشمل:

- **انتفاخ في البطن.**
- **ألام في البطن.**
- **الإسهال الدموي.**
- **التشنج.**
- **الغثيان مع أو بدون قيء.**

أعراض أخرى:

كما تقدم عدوى الدوسنتاريا وغيرها من الأعراض بما في ذلك أعراض الجفاف ، قد تتطور وتشمل الأعراض الأخرى المحتملة التالية:

- **انخفاض كمية البول.**
- **الجلد والأغشية المخاطية الجافة (مثل جفاف الفم).**
- **الشعور بالعطش الشديد.**
- **حمى وقشعريرة.**
- **تشنجات العضلات.**
- **ضعف العضلات (فقدان القوة).**
- **فقدان الوزن.**

الأعراض الخطيرة التي قد تشير إلى وجود حالة تهدد الحياة:

في حالات نادرة، والجفاف الناتج عن الإسهال قد تكون شديدة لدرجة أن حالة مهددة للحياة يمكن أن تتطور يجب التماس الرعاية الطبية الفورية إذا ظهر أي من

الأعراض التالية:

- التغير في مستوى الوعي أو اليقظة.
- تغيير في الحالة العقلية أو تغيير السلوك المفاجئ، مثل الارتباك والهذيان والخمول والهلوسة والأوهام.
- ارتفاع في درجة الحرارة.
- سرعة دقات القلب (عدم انتظام دقات القلب).
- ألام شديدة في البطن.
- الدوخة الشديدة.

والسبب الأكثر شيوعاً من هذ المرض عن طريق مياه الشرب أو تناول الطعام من مصادر ملوثة تحتوي على مسببات الأمراض ، السباحة في المياه الملوثة قد يؤدي أيضاً إلى الإصابة بمرض الدوسنتاريا لهذا السبب يحدث الزحار في معظم الأحيان في الناس الذين يقومون بالسفر إلى البلدان النامية والأطفال الذين يلمسون البراز البشري أو الحيواني دون غسل اليدين بالطريقة الصحيحة.

ما هي عوامل الخطر من الدوسنتاريا ؟

هناك عدد من العوامل تزيد من خطر الاصابة بالدوسنتاريا ، وليس كل الناس لديهم عوامل الخطر للدوسنتاريا وتشمل:

- اتصال وثيق مع شخص مصاب.
- استهلاك المياه غير المعالجة من البحيرات والأنهار أو الجداول المائية.
- السفر في البلدان التي تكون فيها الإصابة منتشرة.
- استخدام حمامات السباحة العامة.

ويمكن خفض خطر الإصابة بالدوسنتاريا من خلال:

- تجنب بلع الماء في حمامات السباحة، وأحواض المياه الساخنة، أو مصادر المياه الترفيهية الأخرى.
- شرب الماء النقى عند زيارة البلدان النامية.

كيف يتم علاج الدوسنتاريا؟

العلاج بالمضادات الحيوية هو الدعامة الأساسية لعلاج الدوسنتاريا البكتيرية ، فمن المهم اتباع خطة العلاج الخاصة للزحار بدقة واتخاذ جميع المضادات الحيوية وفقاً للتعليمات لتجنب الإصابة مرة أخرى .

والمضادات الحيوية الفعالة في علاج الدوسنتاريا التي تسببها الكائنات البكتيرية تشمل:

-سيفترياكسون (Rocephin).

-سيبروفلوكساسين (سيبرو).

-ميثوبريم سلفاميثوكسازول (باكترم، Septra).

-والعلاج الأكثر شيوعا للدوسنتاريا الأميبية هو ميترونيدازول (فلاجيل) ، وهو دواء ضد الطفيليات.

ومن المهم للمريض بالدوسنتاريا ممارسة النظافة الجيدة لتجنب انتشار العدوى إلى أولئك الذين لديهم اتصال وثيق به ، غسل اليدين بشكل متكرر بالماء والصابون بعد استخدام الحمام أو لمس الفراش أو الملابس الملوثة وتجنب استخدام حمامات عامة ، وأحواض المياه الساخنة ، أو غيرها من مرافق المياه الترفيهية .

الفصل الخامس

معالجة مياه الصرف الصحي

الماء سائل الحياة العجيب الذى ميزه الخالق سبحانه وتعالى بالعديد من الصفات الفيزيائية والكيميائية والحيوية التي جعلته حقاً سائل الحياة الفريد، وجعله الله بحق أعجب وأعظم سائل فلولاه ما كانت على الأرض حياة وبدونه لا يوجد سائل الدم وعصارات النباتات ، ولولا الماء ما انتظمت درجة حرارة الأرض ولا تفتتت صخورها ولا تشققت تربتها الزراعية ولعجزنا عن إنبات حبة واحدة على سطح الأرض ، ولهذا تعد المياه أهم المصادر الطبيعية على سطح الكرة الأرضية ولذا يجب التحكم في جودة المياه كلما أمكن لمنع تلوث البيئة.

مصادر مياه المخلفات Sources of waste water

مياه المخلفات هي المياه الناتجة عن استعمال مجتمع ما من المجتمعات السكانية وتشمل ما يلي:

١- مياه مخلفات المنازل وتشمل كل ما يتم صرفه عن طريق شبكات صرف المنازل من مطابخ وحمامات ودورات مياه ويطلق عليها مجتمعة مياه مخلفات المجاري.

٢- مياه مخلفات المصانع ويشمل ذلك مياه المخلفات بما فيها من أحماض وزيوت ومعادن ناتجة من مختلف الصناعات المعدنية والبترولية ومخلفات عضوية نباتية وحيوانية مثل ما ينتج من مخلفات مصانع السكر والورق والمصانع الغذائية والمبيدات ومصانع النسيج وصبغاتها.

٣- مياه مخلفات المزارع والحدائق وتحمل هذه المياه بقايا المخصبات والمبيدات والتي قد تصل لمواسير الصرف الزراعي.

٤- المياه الجوفية والسطحية التي تصل إلي مواسير صرف المدن والقري.

ومياه الصرف الصحي مرتبطة ارتباطا وثيقا بتلوث المياه والتربة ولهذا فإنه من الضروري والحتمي معالجة مخلفات مياه الصرف الصحي والمخلفات السائلة عموما معالجة متكاملة حتى لا تصل تلك المخلفات إلى مصادر المياه سواء استخدمت هذه المياه في أغراض منزلية أو ترفيهية أو في الزراعة، ويجب أن تكون

عمليــة معالجــة وتنقيــة ميــاه الصــرف الصــحي والــتخلص مــن الميــاه المعالجــة والاستفادة منها عملية منظمة تراعي فيها جميع الظروف البيئية والاجتماعية والإنسانية ، ولأن معظم محطات معالجة مياه الصرف الصحي هي محطات بيولوجية لذا تعد المعالجة البيولوجية من أهم نظم المعالجة نظرا لمميزاتها العديدة.
تنتج مياه الصرف الصحى من استهلاك المياه النقية فى الأغراض المنزلية وقد تختلط بها مياه الصرف الصناعى المعالج أو غير المعالج ، ومياه الأمطار ، ومياه غسيل الشوارع ، ومياه الرشح ، و تحتوى مياه الصرف على ملوثات وشوائب ويتباين محتوى مياه الصرف بالملوثات حسب مدة بقاء مياه الصرف الصحى فى الشبكة ، ودرجة تركيز الملوثات من المواد الصلبة والعضوية والكائنات الدقيقة.

ولقد أصبحت مشكلة حماية البيئة المائية فى الوقت الراهن الهدف الأساسى بالنسبة لكل دول العالم مجتمعة لأن أهم قضية تتعلق بعصب الحياة بالنسبة للإنسان والحيوان والنبات هى قضية توافر الموارد المائية الصالحة للعمليات الحيوية.

لقد أصبح حل مشكلة تلوث البيئة المائية أكثر تعقيداً فى مصر بسبب الاستخدام المكثف والواسع النطاق للمبيدات الكيمائية المختلفة فى الزراعة لحماية المزروعات من الأفات ، ولمقاومة الأمراض لرفع إنتاجية وحدة المساحة المزروعة بالإضافة إلى زيادة النشاط الصناعى وما نتج عنه من ظهور أنواع جديدة من الملوثات حيث يعتبر الصرف الصناعى من أهم مصادر التلوث للأنهار والمصارف ، ٠ بالإضافة إلى الزيادة السكانية السريعة ، وظهور تجمعات عشوائية عديدة ، ولذلك كان لابد من الاهتمام بمعالجة مياه الصرف الصحي وإعادة استخدامها للاستفادة منها والمحافظة على البيئة وصحة المواطنين.

الأخطار الناتجة عن مياه الصرف الصحى غير المعالج

Risks produced from non treated sewage water

إن الأخطار الرئيسية التى تكمن في مياه الصرف الصحي تتمثل في الميكروبات المرضية التى تنتقل مع مياه الصرف والحمأه والتى يمكن أن تتسبب الكثير من الأمراض ، ومن أهم هذه الميكروبات المرضية الموجودة في مياه المجارى البكتريا الممرضة والتى تسبب مرض التيفود والكوليرا والدوسنتاريا وغيرها من الأمراض الأخرى المعدية والبروتوزوا (الكائنات الأولية) وهي كثيرة الانتشار في مياه الصرف الصحي وبعضها تسبب مرض الدوسنتاريا الأميبية بالإضافة إلى الفطريات الممرضة.

ويوجد أثار سلبية خطيرة لمياه الصرف الصحي تؤثر على حياة الإنسان والمجتمع بطريقة مباشرة وهي الأثار البيئية الناتجة عن صرف مياه الصرف الصحى فى مياه البحر مما يؤدى إلى تشويه الناحية الجمالية للشواطئ وانتشار الكثير من الأمراض على المناطق الساحلية مما يؤدى إلى أضرار صحية جسيمة لمرتادى هذه الشواطئ وعلى البيئة البحرية هذا بالإضافة إلى انتشار الروائح الكريهة المتمثلة في غاز كبرتيد الهيدروجين والذى يؤثر على الجهاز العصبي ويسبب أمراض العيون والحساسية.

ونظرًا للتقدم العلمى في كثير من المجالات والاهتمام المتزايد بحماية البيئة من التلوث فقد زادت القيود على التخلص من مياه الصرف الصحي وخاصة الناتجة عن المناطق الصناعية حيث لا يسمح بالتخلص منها بصرفها إلى البحر أو دفنها في الأراضى الفضاء ، وأصبح لزاما على كثير من الصناعات وخاصة التى تنتج مخلفات شديدة التلوث أن تعالج هذه المخلفات داخل المصانع بصورة كافية عن طريق محطات تنقية خاصة قبل تصريفها إلى شبكات الصرف الصحى أو التخلص منها بأى طريقة أخرى.

أين يتم التحلص من مياه الصرف الصحى؟

Where getting ride of sewage water?

تتزايد كميات المياه المستهلكة الناتجة عن الأنشطة المختلفة من عام لأخر الأمر الذى يؤدى إلى زيادة حجم التصرفات التى تصرف إلى وسائل التخلص الأتية :

- الشبكات العمومية للصرف الصحى.
- الأنهار والترع والمصارف.
- البحار والبحيرات.

وتعد مياه الصرف الصحى أهم مصادر التلوث لاحتوائها على مجموعة من الملوثات منها المواد الصلبة العالقة وهذه المواد تؤدى إلى تواجد رواسب وحالات تحلل لا هوائى ، وتوجد المواد العضوية القابلة للتحلل البيولوجى حيث تتكون المركبات العضوية من بروتينات (٤٠-٦٠ ٪) وكربوهيدرات (٢٥-٥٠ ٪) ودهون وزيوت (١٠٪) ، ويوجد نوع أخر من المواد الذائبة الغير عضوية مثل الكالسيوم والصوديوم والكبريت وتتواجد هذه المواد من خلال الاستخدام المنزلى وهذه المواد يكون أساس تكوينها من المخلفات المنزلية التى تلقى فى مياه الصرف الصحى وكذلك مخلفات المصانع .

وتحتوى أيضا مياه الصرف الصحى على مركبات عضوية ضارة مثل المبيدات الحشرية والزراعية والمواد الفينولية والمنظفات الصناعية والمعادن الثقيلة الناتجة من الأنشطة التجارية والصناعية.

يوجد أيضاً العديد من البكتريا المرضية التى تنتشر فى مياه الصرف منها السالمونيلا وهى عبارة عن نوع من أنواع البكتريا التى تسبب مرض الحمى التيفودية، لذلك تعد معالجة مياه الصرف الصحي وإعادة استخدامها ضرورة حتمية لما تمثله هذه المياه من مصدر إضافي وغير تقليدى ومتجدد للمياه نظراً لمحدودية الموارد المائية ولتلبية الحاجة المتزايدة للمياه فى مصر ولما تحتويه من عناصر غذائية يحتاجها النبات إضافة إلى تحقيق الشروط الخاصة بالتخلص من هذه النوعية من المياه بطريقة أمنة وعملية.

أهمية معالجة مياه المجاري

Importance of sewage treatment

تعتبر عملية معالجة مياه الصرف الصحى تمهيدا لإعادة استخدامها من أهم العمليات اللازمة لضمان توافر البيئة الصحية للإنسان للأسباب الأتية:

١- المحافظة على الصحة العامة بمنع انتشار الميكروبات المرضية.

٢- حماية مجارى المياه السطحية والجوفية ومياه الشرب من التلوث.

٣- حماية المبانى من الأثار الضارة لتراكم المياه.

٤- حماية الأحياء البحرية من خطر استنزاف الأكسجين الذائب بواسطة المادة العضوية الموجودة فى مياه الصرف الصحى.

٥- منع تلوث المياه التي ستلقي بها مياه المجاري المعالجة حفاظا علي صحة مستخدمي هذه المياه في الشرب أو الاستحمام وللمحافظة أيضا علي الثروة المائية نباتية كانت أو حيوانية مثل الأسماك والشعب المرجانية والطحالب التي تعتبر مصدر لغذاء الأسماك.

٦- التخلص من المواد العضوية وما ينتج عن تحللها من روائح كريهة أو تجمع لرواسب غير مقبولة.

٧- استعمال المخلفات كأسمدة عضوية أو كمصادر للطاقة المتمثلة في الغاز الحيوي(البيوجاز).

ومعالجة مياه المجاري في المدن أو القرى التي تتمتع بمشروعات المجاري العامة تتصل وحدات المجاري المنزلية بالمواسير في باطن الشوارع عن طريق فتحات خاصة، حيث تلتقي مياه المجاري المنزلية بمياه المصانع والمحال العامة ومياه الأمطار وغسيل الطرق، وكذا المياه الأرضية التي تتسرب إلى المواسير مكونة ما يسمى بمياه المجاري العامة، وتسير هذه المياه داخل المواسير حتى تصل عادة إلى محطات المجاري التي تتم فيها المعالجة بطرق خاصة ، وتتمركز كل الطرق الحديثة التي تتبع في عمليات التنقية حول تحقيق غرضين أساسيين :

أولا : فصل أغلب محتويات مياه الجاري من المواد العضوية بالترسيب، وهدم ما يتبقى من هذه المواد على صورة غروية أو ذائبة في السائل المتخلف بالأكسدة الحيوية، وذلك قبل صرف هذا السائل في النهاية إلى المزارع أو المصارف أو البحيرات لإعادة استخدمه في ري الزراعات.

ثانيا: إبادة ما تحمله مياه المجاري عادة من ميكروبات وطفيليات مرضية ويجرى صرف المواد العضوية المعلقة في أحواض ترسيب كبيرة وهي عديدة الأنواع وتختلف في درجة كفاءتها على الترسيب الجيد، ويخرج السائل المتخلف منها إلى حيث ينقى في مرشحات خاصة تعرف بحقول البكتريا (أحواض مملوءة بالزلط) ، أما الرواسب التي تعرف بالحمأه فتدفع عن طريق المواسير ذات الصمامات الموجودة بقيعان أحواض الترسيب إلى أحواض التجفيف .

مشاكل استخدام مياه المجاري غير المعالجة

Problems resulted from using of non –treated sewage water

تشير نتائج الأبحاث التي حصلنا عليها من خلال دراستنا للصفات المختلفة لمياه المجاري أنها تحتوي على العديد من المواد الضارة والتي يمكن إيجازها في النقاط التالية:

١ – وجود العناصر السامة مثل الرصاص، النيكل، الزئبق، ، الكوبلت والكادميوم بتركيزات عالية، هذه العناصر مصدرها الأساسي هو الصرف الصناعي وهده العناصر الصغيرة إذا وصلت للأرض فإنها تنتقل بالتالي إلى النبات ثم إلى الإنسان والحيوان من خلال السلسلة الغذائية وتسبب العديد من الأمراض التي تفتك بصحة الإنسان إذا كانت بتركيزات عالية عن المعدلات المسموح بها عالمياً.

٢ – وجود العديد من البكتريا الضارة للإنسان والحيوان وبنسب عالية تتجاوز مئات الملايين من بكتريا مجموعة القولون والتي تعتبر المصدر الأساسي للأمراض المعوية مثل التيفود والكوليرا والدوسنتاريا.

٣ –تؤكد النتائج أيضا وجود بويضات العديد من الطفيليات المسببة للكثير من الأمراض مثل البلهارسيا والإنكلستوما والإسكارس والديدان الكبدية بالإضافة إلى

وجود البويضات التي تسبب الأمراض للماشية أيضاً والتي تنتقل للإنسان مثل التينيا سوليوم والتينيا ساجيناتا *Tinea solium , Tinea Saginata* .

٤ -كذلك وجود نسب من مركبات المبيدات الفطرية والبكتيرية ومبيدات الحشائش والحشرات والتي زاد استعمالها لحد كبير في هذه الأيام ، ذلك فضلا عن وجود العديد من مركبات الفوسفور والكلوريد السامة بالإضافة إلى وجود بعض مركبات المنظفات الصناعية المعدنية والعضوية.

ووجود نسبة عالية من الرطوبة في هذه المواد تصل إلى أكثر من ٩٥٪ في معظم الحالات والتي تضاعف من مشاكل التصرف فيها أو إعادة استخدامها بغرض تدوير الحمأه للاستفادة منها.

ومن خلال دراسة صفات هذه المخلفات بغرض محاولة الاستفادة منها والحد من التلوث الذي تسببه وإتباع العديد من التكنولوجيات المستخدمة في دول العالم المتقدمة والتي تتلاءم مع ظروفنا المصرية أمكن التوصل إلى نتائج جيدة مؤداها أنه يمكن الاستفادة من مياه الصرف الصحى بعد المعالجة.

مكونات مياه الصرف الصحى Components of sewage water

تتكون مياه المجارى من المخلفات المنزلية والتى تشمل بقايا الدهون والأطعمة والمنظفات الصناعية المستعملة في الغسيل والتنظيف والمواد العضوية والمخلفات الأدمية كذلك المخلفات الصناعية وهي المياه المتخلفة عن المصانع وتحتوى على نسب مختلفة من المواد العضوية والكيميائية وهذا بالإضافة إلى مياه الشطف لساحات المنازل حاملة معها الأتربة وبعض المواد العالقة.

ويعتبر معالجة مياه المجارى عملية ضرورية لتجنب خطورتها ، وما تسببه من مشاكل بيئية، وفى المزارع والأرياف يتم التخلص من مخلفات المجارى دون معالجة بتجميعها في خزانات كسح تفرغ كل مدة وتستعمل محتوياتها كسماد عضوي بعد إضافة مسحوق الجير الحى لقتل ما بها من ميكروبات حية ممرضة.

ومما هو جدير بالذكر إن بعض المجتمعات الصغيرة تتخلص من مخلفات المجارى دون معالجة بطريقة التخفيف وذلك بإلقائها فى أحجام كبيرة من الماء مثل نهر أو بحر أو بحيرة فيحدث تخفيف لتلك المخلفات، وفى هذه الطريقة يجب أن

تكون النسبة بين مياه المجارى الملقاة ومياه النهر أو البحر نسبة متسعة جدا لا تقل عن١ : ٥٠ حتى يتوفر باستمرار ، كمية مناسبة من الأكسجين الذائب فى الماء وكافية للأكسدة البيولوجية واستمرار الحياة المائية ، وفى طريقة التخفيف بالماء يجب أن تلقى مياه المخلفات من خلال مواسير تمتد إلى الداخل بعيدا عن الشاطئ لمسافة لا تقل ٥٠ مترا وعلى عمق لا يقل عن ٥٠٠ مترا محافظة على صحة مستخدمي هذه المياه سواء فى الشرب أو الاستحمام أو الصيد.

وعند إلقاء مياه المجارى فى النهر أو البحر تحدث لمياه المجارى عملية تنقية ذاتية حيث يتحلل ما بتلك المياه من مواد عضوية تحت ظروف هوائية ، بأكسدتها بيولوجيا بواسطة الكائنات الحية الدقيقة عضوية التغذية من بكتريا وفطريات وطحالب وبروتوزوا وبذلك تتحلل المواد العضوية وتتمعدن ، فلا تجد الكائنات الحية الدقيقة المرضية الموجودة بمياه المجارى مصدرا كافياً لها من الغذاء والطاقة فتموت.

وإذا كانت عملية التخفيف ممكنة بالنسبة للمجتمعات صغيرة العدد إلا أنها فى المدن الكبيرة تصبح طريقة التخلص من مياه المجارى غير المعالجة بطريقة التخفيف غير فعاله بل وضارة لزيادة كمية مياه المجارى الملقاة وضيق نسبة التخفيف اللازمة وما يترتب على ذلك من قلة نسبة الأكسجين الذائب بالماء اللازم للاستهلاك بواسطة الكائنات الحية الدقيقة الهوائية لتحليل المواد العضوية وبناء عليه تنشط وتسود الكائنات الحية الدقيقة الاختيارية واللاهوائية وبذلك تتحلل المواد العضوية لمخلفات المجارى تحت ظروف لاهوائية فتظهر روائح كريهة غير مستحبة وتتلوث المياه وتموت الأسماك والأحياء المائية، لذلك يتحتم ضرورة معالجة مياه المجارى كيميائياً وبيولوجياً قبل التخلص منها لما فى ذلك من مزايا عديدة ، والأساس فى عملية المعالجة هو تحليل ما بمياه المجارى من مواد عضوية والقضاء على ما تحتويه من ميكروبات مرضية.

الأكسجين الكيمائي المتطلب

Chemical oxygen demand (C.O.D)

وهو مقياس لتركيز المادة العضوية التى يمكن أكسدتها كيميائيا فى مياه المجارى ويستخدم فى قياسه مواد مؤكسدة مثل ثانى كرومات البوتاسيوم أو برمنجانات البوتاسيوم وتخلط مع المياه مدة كافية فى وجود حمض الكبريتيك، وهو مقياس مهم لأنه سريع حيث يمكن تقديره خلال ٣ ساعات ويفيد فى حالة تعذر إجراء اختبار BOD نتيجة وجود عناصر سامة أو مثبطات للنشاط الميكروبى ، ولكن هذا الاختبار لا يفرق بين المادة العضوية القابلة للتحلل والتى يمكن التخلص منها بطرق المعالجة وبين المادة العضوية غير القابلة للتحلل.

الأكسجين الحيوى المتطلب

Biological oxygen demand (B.O.D)

وهو اختبار مهم جدا للتعرف على تركيز المادة العضوية قبل المعالجة وبعدها ويستدل به على كفاءة عملية المعالجة ويعبر هذا الاختبار عن كمية الأكسجين اللازمة لنشاط البكتريا فى أكسدة المواد العضوية الموجودة فى عينة المخلفات السائلة وهو تفاعل ميكروبى هوائى ويعتمد على تركيز المواد العضوية ودرجة الحرارة أثناء التحضين وفترة حفظ العينة ويبلغ تركيز الأكسجين الحيوى المستهلك للمياه الصافية ٥ مجم/ لتر وتزداد مع زيادة تركيز المادة العضوية والملوثات وقد يرتفع إلى عدة آلاف.

وترجع أهمية هذا الاختبار فى:

– تخطيط محطات معالجة مياه الصرف الصحى ومدى كفاءتها.

– يفيد فى حالة تصريف مياه المعالجة فى الأنهار حيث لابد من التحكم فى درجة معالجة المخلفات قبل تصريفها فى الأنهار وتعتمد العلاقة بين خواص المياه فى النهر وخواص مياه المجارى المنصرفة فيه على المعادلة الأتية:

$$B.Q + b.q = BOD \times (Q + q)$$

حيث:

B : الأكسجين الحيوى المستهلك لمياه النهر.

Q: تصريف النهر.

q: تصريف مياه المجارى.

b : الأكسجين الحيوى المستهلك لمياه المجارى عند تصريفها فى النهر.

BOD هو الأكسجين الحيوى المطلوب لمياه النهر والمجارى معا بعد صبها مباشرة فى مياه النهر.

عيوب استخدام ال BOD

١- لا يفرق الBOD بين الأكسجين المتطلب للأكسدة الكربونية المطلوب معرفتها والأكسجين المتطلب لعملية النترتة.

٢- المياه التى بها ميكروبات نشطة تظهر مستويات عالية من BOD.

٣- وجود تركيزات من الفلزات السامة يثبط النشاط الميكروبى.

٤- المخلفات الصناعية مثل الفينولات والكلور تخفض من BOD.

ورغم ذلك يعد هذا الاختبار هو المفيد فى الكشف عن التلوث العضوى.

أنواع الميكروبات المرضية الموجودة فى مياه الصرف الصحى

تختلف أنواع الميكروبات وأعدادها تبعا لاختلاف تركيب المخلفات السائلة ، وعموماً فإن من أهم أنواع الميكروبات الممكن تواجدها هى:

Escherichia coli

Enterobacter aerogenes *Klebsiella* sp

Enterococcus faecalis *Campylobacter* sp

Salmonella paratyphi (A,B,C)

Salmonella typhi *Salmonella typhimurium*

Salmonella interica *Salmonella interiditis*

Vibrio cholera *Shigella sonnei*

Staph . aureus *Vibrio parahaemolyticus*

Aeromonas hydrophila　　***Bacillus cereus***

Clostridium perfringens　***Listeria monocytogenes***

Mycobacterium tuberculosis　***Pseudomonas aeruginosa***

طرق معالجة المخلفات السائلة

Treatments methods of liquid wastes

معالجة المخلفات السائلة تتم بهدف تحسين خواص المياه بالقضاء على أكبر نسبة من الميكروبات المرضية واستبعاد أكبر نسبة من المواد العضوية بحيث لا تسبب المياه بعد معالجتها فى انتشار الروائح غير المرغوبة، حتى يمكن التخلص منها أو إعادة استخدامها بدون أضرار صحية أو نفسية، والغرض من ذلك هو الحصول علي مياه تصلح للري بالإضافة إلي الحصول علي رواسب تصلح كسماد عضوي.

طرق المعالجة　　Treatment methods

(١) طريقة التخمير اللاهوائى　Anaerobic digestion

وهى تتم فى الوحدات المنزلية فى أحواض ترسيب منزلية تقوم بثلاث مهام هى:

- **ترسيب المواد العالقة.**
- **تخزين المواد الراسبة مدة كافية.**
- **توزيع المياه المعالجة إلى طبقات الأرض المختلفة.**

عيوب التخمير اللاهوائى

- **المادة العضوية بها غير متحللة تماماً.**
- **مستوى الأكسجين الحيوى BOD فيها مازال عالياً.**
- **الرائحة غير مقبولة.**
- **لا تتخلص من الميكروبات الممرضة لذلك يجب الاحتياط من تسرب هذه المياه إلى خزانات المياه أو مواسير مياه الشرب.**

(٢) عمليات التحول الهوائى Aerobic metabolic processes

تستخدم هذه الطريقة فى الأراضى التى يكون مستوى الماء الأرضى مرتفعاً ولا يمكن فيها استعمال الترشيح الأرضى.

وتعتمد على استخدام طبقة من البلاستيك كطبقة عازلة كاتمة للنفاذية بحيث تظل المخلفات السائلة فوقها مما يسهل من عملية التخلص من الماء عن طريق البخر- نتح Evapotranspiration بواسطة النباتات النامية فوق طبقة البلاستيك.

وتمتاز هذه الطريقة بتوفير الظروف الهوائية للميكروبات الهوائية مما يساعد على أكسدة المواد العضوية الموجودة فى مياه المجارى.

١- الطريقة الهوائية لمعالجة المخلفات المائية

Aerobic treatment of

بدأت أبحاث معالجة المخلفات المائية فى مانشستر عام١٩١٠م وكانت هذه المعالجة ببساطه عبارة عن تهوية هذه المخلفات لتقوم البكتريا بإزالة المواد العضوية عن طريق الأكسدة الهوائية ومعظم المخلفات السائلة بما فيها مخلفات المجارى المنزلية تنقل فى أنابيب مغلقه إلى محطة معالجة المخلفات ولكى يتم المعالجة بهذه الطريقة بنجاح يجب ألا تزيد قيمة الBOD عن ٢٠٠ مجم/لتر، ولذلك فان المخلفات الصناعية التى لها BOD فى المدى ١٠٠٠-١٠٠٠٠ مجم/لتر يتم تخفيفها قبل معاملتها غير أن هناك محطات متخصصة فى معالجة المخلفات التى لها BOD عالى باستخدام طريقة الحمأه النشطة ، وتنقية المخلفات السائلة إلى الدرجة التى تسمح بصرفها فى المياه الجارية تعتمد على النشاط التمثيلى للبكتريا وهذا يعتمد على تهيئة الظروف المثلى لنمو البكتريا من حيث الأكسجين ودرجة الحموضة والقلوية (pH) والكربون والنيتروجين والفوسفور.

وفى المعالجة الهوائية تقوم البكتريا بأكسدة المواد العضوية إلى ثانى أكسيد الكربون وماء حيث ينطلق ثانى أكسيد الكربون إلى الغلاف الجوى ويصرف الماء إلى المصارف الطبيعية ويبقى بعد ذلك راسب عبارة عن مواد ذائبة مختلطة مع المواد

الخلوية ولذلك فان هذا الراسب يحتوى على مواد غذائية جيدة بالنسبة للبكتريا وإذا ترك فتره بعد فصله يحدث له هضم ذاتى بواسطة الخلايا ويمكن التخلص منه بعد ذلك دون أن يكون له أثر ضار.

٢- طريقة الحمأه المنشطة (Activated sludge) لمعالجة المخلفات المائية

الحمأه النشطة Activated sludge

الحمأه النشطة عبارة عن رواسب مخلفات مجارى حديثة المعالجة غنية بالكائنات الدقيقة من بروتوزوا وفطر وخميرة وبكتريا ، وتضاف كبادئ في أحواض المعالجة البيولوجية فتساعد تحت الظروف الهوائية على سرعة تحلل ومعدنة المواد العضوية الموجودة بمياه المخلفات.

فى سنة ١٩١٤م تطورت قليلا عملية المعالجة الهوائية حيث كانت المخلفات المائية تنقل إلى أحواض وتتم تهويتها لفترة معينة ثم تترك فتره حتى تترسب المكونات الثقيلة ثم تنقل المياه الرائقة إلى أحواض أخرى وتملئ الأحواض الأولى بمخلفات مائية جديدة وهكذا حتى تتراكم كمية معينة من الرواسب فيتم تهويتها جيدا لمدة ٦ ساعات وذلك لتنشيط البكتريا التى توجد فى هذه الرواسب وسميت هذه الرواسب بالحمأه المنشطة ومنذ ذلك الوقت عرفت طريقة الحمأه المنشطة لمعالجة المخلفات المائية حيث تحتوى مياه المجارى على مخلفات المنازل والمصانع وهى عبارة عن محلول مخفف لمواد عضوية وغير عضوية وبها مواد صلبة معلقه وخليط من البكتريا مصدرها الرئيسى براز الإنسان ومياه الصناعة غير المرشحة.

وبالنسبة لمواد اليوريا والأمونيا وثانى أكسيد الكربون التى توجد فى مياه المجارى فان الهدم البكتيرى لها يكون سريعا حتى انه قبل أن تصل مياه المجارى إلى محطات المعالجة ، وقبل بدء المعالجة لابد من معرفة نسب المواد العضوية (النيتروجين والفوسفور) حيث تلعب هذه النسب دور هام فى صلاحية المخلفات للمعاملة الميكروبيولوجية وقد وجد أن نسبة BOD إلى النيتروجين التى تساوى ١:٣٠ ونسبة BOD إلى الفوسفور التى تساوى ١:١٥٠ هى النسب المثلى لتطبيق طريقة الحمأه المنشطة لمعالجة المخلفات.

وبصفة عامه فإن محطة معالجة المخلفات المائية بطريقة الحمأه المنشطة تشمل أربعة خطوات رئيسيه هى كما يلى :

١- التهوية فى حوض التهوية المزود بأجهزة ميكانيكيه تضخ الهواء مع تقليب المخلفات المائية بما تحتويه من مواد عضويه لتخلط جيدا بالأكسجين.

٢- الترويق فى الحوض المخصص لذلك حيث تترسب جميع المكونات الثقيلة المكونة من مواد عضويه فى قاع الحوض.

٣- إعادة المخلفات المائية المحتوية على مواد معلقة مرة أخرى إلى حوض التهوية.

٤- سحب الزائد من الرواسب المستقرة فى قاع حوض الترويق.

وإذا لم تنجح واحده من الخطوات السابقة لا تنجح العملية كلها وتبدأ المعالجة بعزل المواد الطافية والمواد الصلبة الخشنة المعلقة أثناء دخول مياه المجارى إلى محطات المعاملة حيث يتم سحق المواد الصلبة وإعادة إدخالها مره أخرى فى المجرى الرئيسى المؤدى إلى داخل المحطة ، بعد ذلك تمر مياه المجارى فى مجرى به رمل خشن وذلك لترسيب الرمل والمعادن الثقيلة الصلبة.

ثم يتم إدخال المياه بعد ذلك والتى هى عبارة عن معلق من المواد الصلبة الدقيقة بالإضافة إلى المواد الذائبة إلى خزان الترسيب حيث تترسب الأجزاء الثقيلة فى شكل حمأه وتزال هذه الحمأه من خزانات الترسيب وتسمى بالحمأه الخام ثم تعامل منفصلة تحت ظروف لاهوائية ، أما الراشح فيتم إدخاله إلى خزان التهوية حيث تضبط الحالة الغذائية إذا لزم الأمر بإضافة النيتروجين أو الفوسفات أو أى عناصر غذائية أخرى مطلوبة ثم يضاف إلى الخزان لقاح من الحمأه المنشطة ، وهذا اللقاح عبارة عن كتله من الحمأه تم تهويتها ميكانيكيا بواسطة ضخ الهواء إليها لينمو بها أكبر عدد ممكن من خليط البكتريا ومعظمها من البكتريا الهلامية.

ويجب أن تكون قيمة ال BOD فى المخلفات الداخلة إلى خزانات التهوية متناسبة مع معدل الإمداد من الأكسجين الذائب، وفى طريقة الحمأه المنشطة لمعالجة المخلفات يمكن استخدام مياه لها BOD يتراوح من ٣٠٠٠-٥٠٠٠ مجم/لتر حيث يحدث نمو سريع للبكتريا يصاحبه إزالة للمواد العضوية الغير ذائبة

عن طريق الأكسدة وعن طريق استخدام هذه المواد كمواد بناء للخلايا أو مواد مخزنة داخل الخلايا أو عن طريق ادمصاصها على الكتل المتلبدة، وبعد نفاد المواد الغذائية تبدأ الخلايا فى التحلل ويقل عدد البكتريا وخلال هذه المرحلة تتكون المواد السطحية بما يصاحبها من رغاوى ثم يتم بعد ذلك إدخال السائل إلى خزان الترسيب للمرة الثانية حيث تترسب الحمأه التى تسمى فى هذه الحالة بالحمأه المتزنة ويتم فصلها ،أما السائل الرائق فإما أن يعامل بالكلور أو تعاد تهويته قبل صرفه فى المصارف السطحية، وقد تطورت طريقة الحمأه المنشطة لمعالجة المخلفات المائية مع بقاء الأسس الأربعة التى سبق الإشارة إليها فقد تطورت عملية التهوية التى كانت تتم عن طريق مواسير من السيراميك مغمورة تحت السطح وتضخ الهواء فى شكل فقاقيع وعندما ظهرت مشكلة انسداد هذه المواسير تم تطويرها إلى مواسير رأسيه ذات شكل مخروطى ويضخ الهواء من فتحات مغمورة لمسافة قصيرة.



شكل (٥-١): معالجة مياه الصرف بالحمأه النشطة

كما حدث تطور أخر فى عملية التهوية عندما لوحظ أنها دائما ما تكون غير كافيه للحصول على نمو كافى من البكتريا لذلك زودت كثير من محطات المعالجة فى ألمانيا والولايات المتحدة الأمريكية بنظام التهوية بالأكسجين النقى، وفى تطور أخر للمعالجة بطريقة الحمأه المنشطة تم إمداد أحواض التهوية بمواد تساعد على نمو البكتريا وهذه المواد قد تكون فى شكل مسطحات من البلاستيك مغمورة فى الأحواض كما تم فى ألمانيا سنة ١٩٨٦م أو تملئ أحواض التهوية حتى ٤٠٪ من حجمها بخرز من الPolypropylene لا يتعدى قطر الواحدة ٤مم كما تم فى اليابان

سنة ١٩٩٥ م حيث تكون سطوح هذا الخرز مناسبة لنمو البكتريا وبعد تطوير أغشية الترشيح زودت بعض محطات معالجة المخلفات المائية بوحدات الترشيح فوق العالي Ultrafilteration أو الترشيح الفائق كما يسمى فى بعض البلاد العربية، حيث تمرر المخلفات المائية بعد إزالة الكتل الصلبة الكبيرة من خلال هذه الوحدات وقد وجد أن الراشح يكون خالى تقريباً من أى عوالق، عندما طبق هذا النظام فى بعض المحطات فى الولايات المتحدة الأمريكية سنة ١٩٩٨ م وعلى أى حال فما زال هذا النظام مكلف وغير اقتصادي ولذلك يقتصر تطبيقه على بعض الحالات الخاصة.

المعالجة اللاهوائية للمخلفات المائية

Anaerobic treatment of liquid wastes

انتشرت حديثاً فى كثير من البلاد المتقدمة مثل ألمانيا والولايات المتحدة الأمريكية عملية معالجة المخلفات المائية تحت ظروف لاهوائية وأثناء عملية الهدم اللاهوائى تتحول المادة العضوية إلى غازى الميثان وثانى أكسيد الكربون فى خطوات متميزة عن بعضها البعض عن طريق مجموعات مختلفة من البكتريا ويمكن تحديد هذه الخطوات فى ثلاثة مراحل هى:

المرحلة الأولى First stage

تقوم فيها البكتريا غير ذاتية التغذية مثل ***Bacillus cereus*،** ***Micococcus*،** ***Bacteriods*،** ***Clostridium*** بتحليل المركبات العضوية المعقدة مثل عديدات التسكر والبروتينات والليبيدات ثم تقوم هذه البكتريا بتخمير نواتج تحلل هذه المواد حيث ينتج عن هذا التخمير أحماض دهنية طويلة السلسلة والخلات والفورمات وحمض البروبيونيك والهيدروجين والأمونيا وكحولات مختلفة وأحماض أمينية ومركبات أروماتية.

المرحلة الثانية Second stage

تقوم فيها مجموعه من البكتريا تسمى عادة **Syntrophic bacteria** بهدم الأحماض الدهنية طويلة السلسلة وحمض البروبيونيك والكحولات المختلفة

وبعض الأحماض الأمينية والمركبات الأروماتية إلى المواد الأولية لإنتاج غاز الميثان وهى الهيدروجين والخلات والفورمات ،

المرحلة الثالثة Third stage

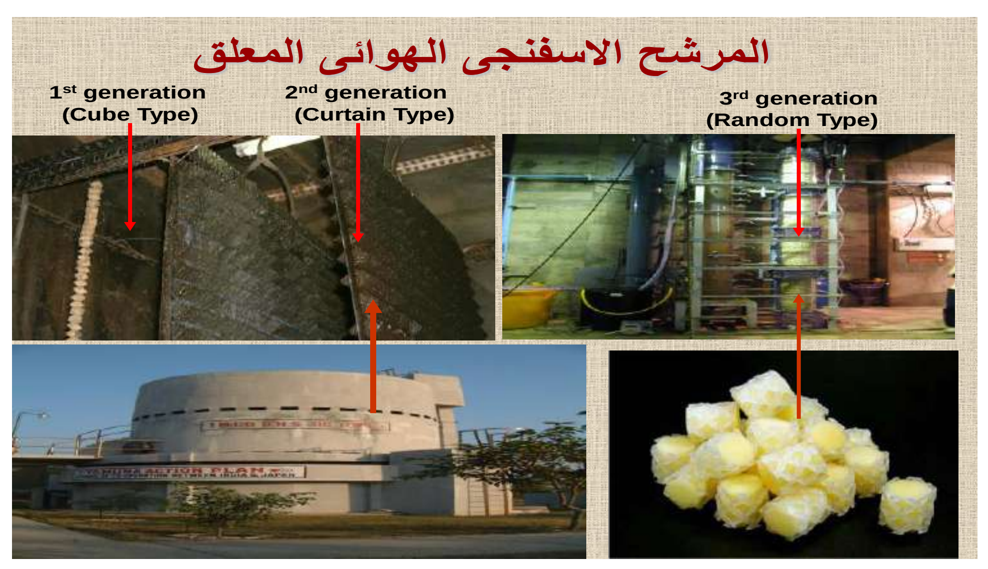
تقوم بها مجموعات كبيره ومتنوعة من بكتريا الميثان حيث توجد مجموعه تستخدم الهيدروجين والفورمات الناتجين من المرحلة الثانية لاختزال ثانى أكسيد الكربون إلى ميثان تسمى Hydrogenotrophic methanogens .

وتوجد مجموعه أخرى تمثل الخلات وتحوله إلى ميثان وثانى أكسيد الكربون.

تعالج السوائل الناتجة من المعالجة الابتدائية بيولوجيا وذلك للتخلص مما بها من مواد عضوية ، وذلك بأكسدتها ومعدنتها إلى كحولات وأحماض عضوية وأخيرا إلي CO_2, H_2O, NH_3, H_2S ، ويتم ذلك فى أحواض تسمي أحواض المعالجة البيولوجية بإضافة الحمأه النشطة مع توفير الظروف الهوائية حيث يجري عملية تهوية وذلك للعمل علي تنشيط البكتريا الهوائية لأكسدة المواد العضوية الموجودة بالماء والتخلص منها تحت ظروف المعالجة البيولوجية الهوائية بالحمأه النشطة حيث تتكون أملاح الفوسفات والنترات ، ويمكن التخلص من هذه الأملاح بمعالجة المخلفات بيولوجيا تحت ظروف لاهوائية.

عقب المعالجة البيولوجية تفصل الرواسب وتؤخذ السوائل وتمرر على مرشحات رملية حيث تتوفر الظروف الهوائية والميكروبات لاستكمال تحلل ما تبقى من مواد عضوية بالسوائل ، ثم بعدها تنقل المواد السائلة إلي المرحلة النهائية والخاصة بالمعالجة الكيميائية .

– المعالجة اللاهوائية و ذلك باستخدام Anaerobic Hybrid system فى محاولة لخفض التكلفة تم استبدال المعالجة اللاهوائية بأحواض ترسيب مع استخدام المرشح الهوائى الإسفنجى المعلق كمرحلة ثانوية فى معالجة مياه الصرف الصحى مع الأخذ فى الاعتبار إزالة الملوثات العضوية والميكروبية COD, BOD5, TSS, Pathogenic bacteria لإنتاج مياه معالجة مطابقة للإلقاء على المصارف الزراعية أو استخدامها فى رى المحاصيل التى لا تؤكل طازجة.



شكل (٥-٢): المعالجة باستخدام المرشح الهوائى الإسفنجى المعلق

مراحل معالجة مياه الصرف الصحي

Stages of sewage water treatment

تمر عملية معالجة مياه الصرف الصحي بالعديد من المراحل كالأتي:

أولاً: مرحلة المعالجة الأولية   Preliminary treatment

تتم في هذه المرحلة إزالة جميع المواد التي قد تعيق عمليات المعالجة اللاحقة، مثل أغصان الأشجار، والحصى، والزيوت، والرمال، والتربة، باستخدام الأدوات الأتية:

١-المصافي Screens والتي تعمل على حجز المواد كبيرة الحجم.

٢-أحواض حجز الرمل   Grit chambers والتي ترسب المواد غير العضوية كالزيوت، والرمال، والتربة، والحصى، حيث تمرر مياه الصرف الصحي في أحواض ترسيب رملية، ويتم التحكم في المواد المترسبة عن طريق التحكم في سرعة الترسيب، ليتم تخزينها في أحواض محددة وإرسالها إلى مكب النفايات لاحقاً، وتتميز هذه الأحواض بصغر حجمها.



شكل (٥-٣): أحواض حجز الرمال

٣-مرحلة الترسيب الابتدائية Primary sedimentation

في هذه المرحلة تزال المواد ذات الكثافة العالية التي قد تكون مواد عضوية أو غير عضوية، وتؤدي هذه المرحلة إلى انخفاض تركيز المواد العالقة بنسبة تصل إلى ٥٥%.



شكل (٥-٤): أحواض الترسيب الابتدائي

ثانياً: مرحلة المعالجة الحيوية Biological treatment

تعتبر المعالجة البيولوجية لمياه المجاري من أهم مراحل المعالجة التي يجب تطبيقها على المياه في المحطة وتهدف هذه المعالجة إلى أكسدة المواد العضوية المختلفة الموجودة في مياه المجاري وتحويلها إلى مركبات مستقرة وكتلة حيوية تتألف في معظمها من البكتريا وبعض الكائنات الدقيقة التي يمكن فصلها عن المياه

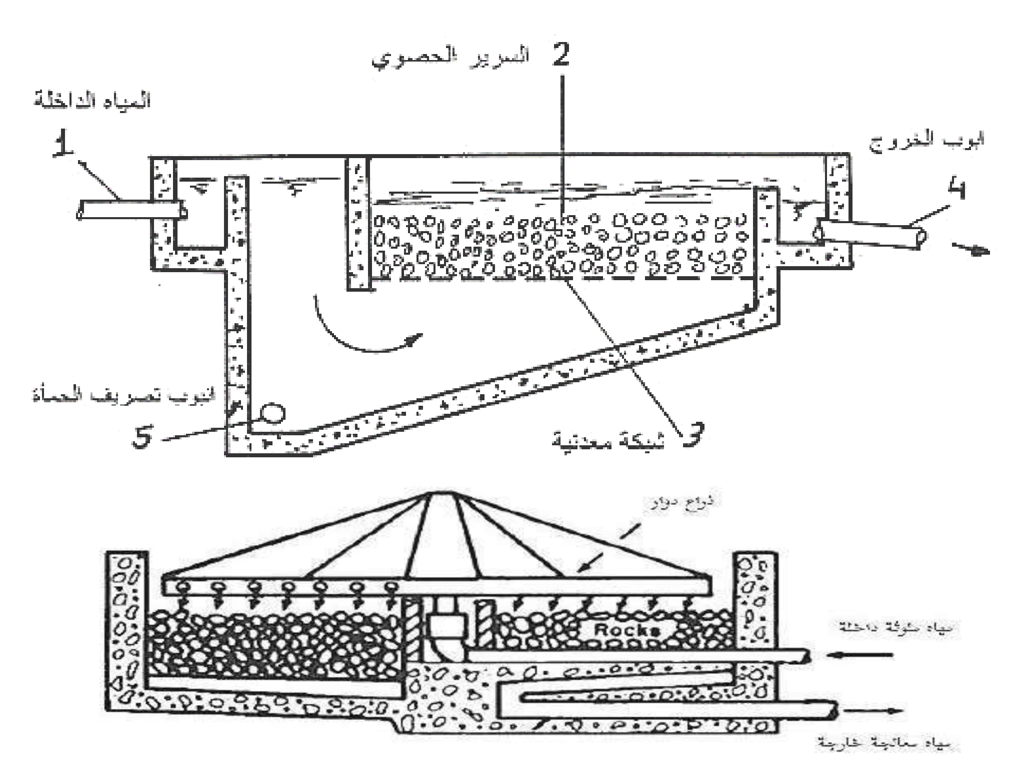
ومعالجتها على انفراد وبالتالي الحصول على مياه خالية من التلوث العضوي ، ويعتبر وجود الأكسجين والبكتريا أهم عنصرين من العناصر المطلوبة لإنجاح المعالجة البيولوجية إضافة إلى شروط أخرى مثل درجة الحرارة ووجود بعض المغذيات المساعدة، في هذه المرحلة يتم أكسدة المواد العضوية الموجودة في مياه الصرف الصحي بواسطة البكتريا الهوائية، ويتم استخدام وسيلة المعالجة حسب نظام النمو البيولوجي المستخدم للكائنات الحية الدقيقة والتي منها النمو البيولوجي الهوائي المعلق حيث تكون البكتريا معلقة في المياه العادمة أثناء عملية الخلط.

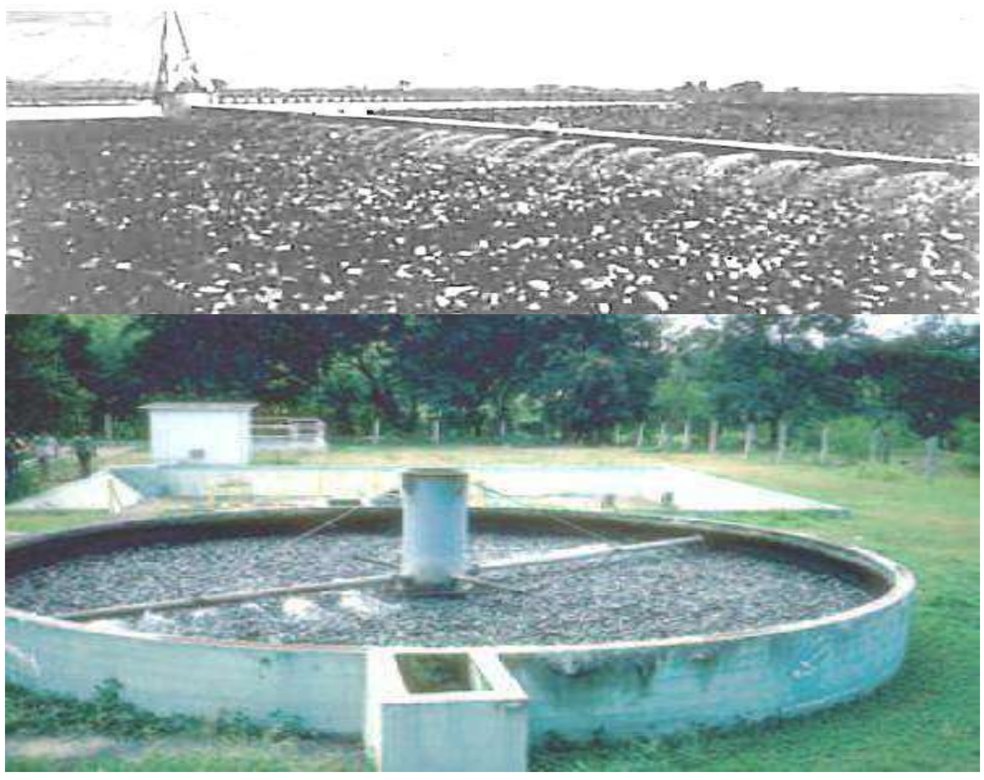
طرق المعالجة البيولوجية Methods of biological treatment

ومن الطرق الشائعة للمعالجة البيولوجية ما يلي:

أولاً: المرشحات البيولوجية Biological filters

تعتبر طريقة المرشحات البيولوجية من أقدم طرق المعالجة البيولوجية ويقل استعمالها في الوقت الحاضر ماعدا في بعض استخدامات المعالجة لمياه الفضلات الصناعية، ويتكون المرشح البيولوجي من سرير من المواد الحصوية أو البلاستيكية الخشنة توزع فوقه مياه المجاري بواسطة ذراع رشاش دوار حيث تتسرب مياه المجاري عبر فراغات الوسط المرشح ملامسة هذا الوسط الذي تنمو عليه الكائنات العضوية الدقيقة التي تقوم بتفكيك المواد العضوية وأكسدتها بمساعدة الهواء الجوي وتخرج المياه المرشحة من أسفل المرشح إلى حوض ترسيب ثانوي لفصل وإزالة الحمأة عن المياه، والمرشحات البيولوجية نوعان ذات معدل ترشيح عالي أو منخفض، والحمأة الناتجة تحتاج للتجفيف فقط، ومن أهم مساوئ هذه الطريقة انتشار الذباب والبعوض في الموقع وعدم ثبات مردود المعالجة.



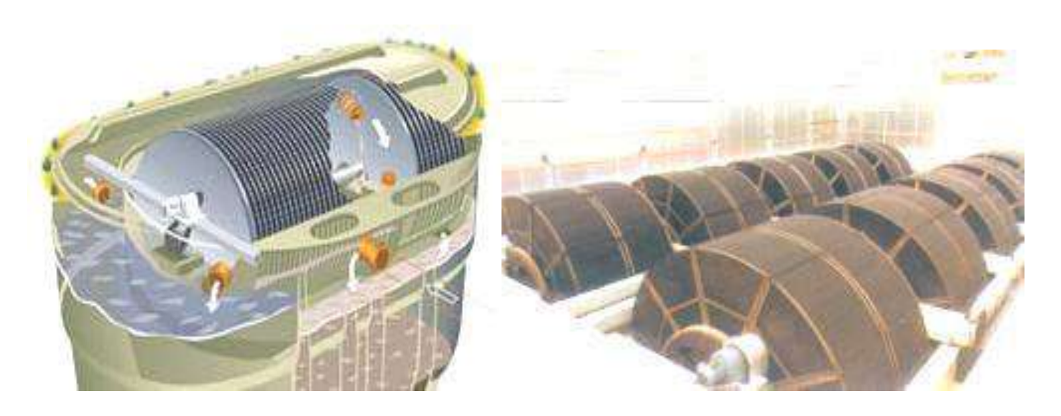


شكل (٥-٥): نماذج للمرشحات البيولوجية

ثانياً: الأقراص البيولوجية الدوارة Rotatable biological discs

وتعتبر هذه الطريقة إحدى طرق النمو بالغشاء الثابت كما هو الحال في المرشحات البيولوجية، فيما عدا أن الكتلة الحيوية هي التي تلامس الماء أثناء دوران الأقراص وليس الماء هو الذي يلامس الكتلة البيولوجية.

تتكون وحدة المعالجة من مجموع أقراص (بلاستيكية غالباً) تدور حول محور مرتبط بها وغاطسة إلى حوالي نصف قطرها ضمن مياه المجاري، وبعد خروجها يدخل الهواء بينها ملامساً الغشاء البيولوجي (طبقة بيولوجية تنمو على سطح الأقراص) والذي تجري المعالجة بواسطته، تستعمل هذه الطريقة في محطات المعالجة الصغيرة وعادة يبنى عدد من صفوف أقراص التماس بشكل متتابع خلف بعضها في حوض التهوية، وتمتاز هذه الطريقة باستهلاكها القليل للطاقة وبقلة الحمأة الناتجة عنها ويبلغ معدل التنقية ٨٥٪.



شكل (٥-٦): الأقراص البيولوجية الدوارة

ثالثاً: الحمأة المنشطة Activated sludge

فيها تنشط الكائنات الحية الدقيقة عن طريق إضافة كمية قليلة من حمأة نشطت سابقاً، ثم تخلط مياه الصرف الصحي وتقلب لتهويتها، لتقوم البكتريا بأكسدة المواد العضوية، وتؤدي عملية التقليب المستمرة إلى تخثر المواد المعلقة وزيادة تركيزها ليتخلص منها لاحقاً في عملية الترسيب الثانوية، وتعتبر هذه الطريقة من أكثر الطرق شيوعاً في الوقت الحاضر بسبب فاعليتها العالية في المعالجة وسميت بهذا الاسم لأنه يتم إعادة جزء من الحمأة المترسبة في أحواض الترسيب الثانوية

إلى حوض التهوية وذلك بشكل مستمر وهذا يساعد في تسريع العملية البيولوجية وزيادة كفاءتها بسبب زيادة كثافة الكتلة الحيوية في حوض التهوية وبالتالي زيادة معدل الاكسدة وتفكيك المواد العضوية إلى مكوناتها الأساسية، وتدخل المياه المعالجة إلى أحواض التهوية بعد مرورها على أحواض الترسيب الأولية.

وبالرغم من أنها أكثر كفاءة من المرشحات البيولوجية فهي تحتاج إلى مهارة عالية في التشغيل ومن أهم الأمور الواجب متابعتها في التشغيل ما يلي:

- **التغير في معدلات التصريف لمياه المجاري الداخلة للمحطة.**
- **التغير في تركيزات المواد الملوثة الموجودة في مياه المجاري.**
- **تركيز المواد المعلقة في أحواض التهوية ونسبة المواد المتطايرة فيها.**
- **نسبة الرواسب المعادة وتركيز المواد المعلقة بها.**
- **تركيز الأكسجين الذائب في أحواض التهوية.**
- **كفاءة المزج في أحواض التهوية ولهذا العامل(المزج) أهمية أساسية لعدة أسباب هي:**

١-يساعد على إمداد مياه المجاري في أحواض التهوية بالأكسجين الذائب ويساعد على خلط الأوكسجين مع محتويات أحواض التهوية.

٢-يساعد التقليب على استمرار التلامس بين الكائنات الحية الدقيقة وكل من الأكسجين الذائب والمواد العضوية.

٣-يمنع المواد المعلقة من الترسيب إلى قاع الحوض.

ويتم المزج إما بالتهوية الميكانيكية أو بواسطة الهواء المضغوط ولطريقة الحمأة المنشطة مميزات عديدة نذكر منها:

١- لا تحتاج لمساحات واسعة من الأرض مقارنة مع طرق المعالجة الأخرى.

٢-كفاءة عالية في المعالجة.

٣- لا تحتاج لأيدي عاملة كثيرة.

٤- يمكن إنشاؤها بالقرب من المدن.

٥- لا تؤدي إلى انتشار الروائح وتجمع الحشرات الضارة كالذباب خاصة بتوفر التشغيل المثالي.

ومن مساوئ هذه الطريقة:

١- احتواء الحمأة الثانوية على نسبة رطوبة عالية مما يؤدي إلى زيادة كبيرة في حجمها ويصعب تجفيفها.

٢- ذات تكاليف عالية.

٣- تحتاج لتجهيزات كهربائية وميكانيكية مرتفعة التكلفة.

٤- تحتاج إلى كوادر فنية متخصصة للتشغيل.

رابعاً: التهوية المطولة Prolonged aeration

وهي إحدى طرق الحمأة المنشطة التي تستخدم لمعالجة التصرفات الصغيرة، وهي طريقة سهلة ومرنة في تشغيلها ويمكن الاستغناء عن مرحلة الترسيب الابتدائي ومعالجة مياه المجاري بعد عملية حجز المواد الطافية والرمال إن أمكن، ومن مزايا هذه الطريقة تثبيت المواد العضوية والاستغناء عن معالجة الرواسب قبل تجفيفها أو استعمالها.

وفي طريقة المعالجة بالتهوية المطولة تدخل مياه المجاري الخام(بعد حجز المواد الطافية والرمال) لأحواض التهوية حيث تنشط البكتريا الهوائية في أكسدة المواد العضوية ، ويساعد على ذلك عملية التهوية الميكانيكية التي تعطي الأوكسجين الذائب للمياه ، وتسبب عمليات مزج وتحريك مستمر للسائل ضمن الحوض مما يزيد من فعالية عملية المعالجة ، وتخرج المياه من أحواض التهوية لأحواض الترسيب حيث ترسب المواد العالقة وما بها من الكائنات الحية الدقيقة ، ثم يعاد نسبة كبيرة من هذه الرواسب(الحمأة المنشطة الثانوية) إلى أحواض التهوية للحفاظ على التركيز المناسب من المواد العالقة وما تحمله من البكتريا التي تقوم بعملية الأكسدة .

ويلزم للحفاظ على تركيزات ثابتة من المواد العالقة في أحواض التهوية أن يتم تصريف نسبة من المواد المترسبة في أحواض الترسيب بدون مشاكل الرائحة حيث تكون هذه الحمأة مؤكسدة لبقائها في أحواض التهوية مدة طويلة، وتدخل عدة مفاهيم أساسية في صلب المعالجة البيولوجية ضمن أحواض التهوية نذكر منها

عمر الحمأة، نسبة الغذاء إلى كتلة المواد الصلبة الطيارة، ويمكن التخلص من الحمأة الزائدة من هذه العملية بأحد الطرق الأتية:

١- تجفيف الحمأة الزائدة ضمن أحواض تجفيف ثم استخدامها كسماد وتصرف الحمأة الزائدة كنسبة من الحمأة المترسبة في أحواض الترسيب الثانوية، أو كنسبة من تصريف مياه أحواض التهوية.

٢- التشغيل بدون صرف حمأة، أي بإعادة جميع الرواسب من أحواض الترسيب إلى مدخل أحواض التهوية، على أساس افترضه بعض الباحثون وهو أن الكائنات الحية الدقيقة تتغذى على جزء من مكونات الخلايا البكتيرية غير قابلة للتحلل، بالإضافة إلى المواد الغير عضوية الموجودة أصلاً في مياه المجاري، كل هذه المواد التي لم تتأكسد، تتراكم في أحواض التهوية ويزيد تبعاً لذلك وبالتدريج تركيز المواد العالقة في المياه الخارجة من أحواض الترسيب، ورغم زيادة هذه المواد العالقة في المياه المعالجة إلا أن هذه المواد تكون مؤكسدة.



شكل (٥-٧): أحواض تجفيف الحمأه

٣-إذابة الحمأة الزائدة كيميائياً وإدخالها لأحواض التهوية ليتم أكسدتها مع مياه المجاري، ويمكن عمل الإذابة إما بصورة مستمرة أو متقطعة حسب سعة محطة المعالجة، ولكن هذه الطريقة تشكل عبئاً فنياً إضافياً على التشغيل.

وعموماً يمكن تحديد طريقة التخلص من الحمأة الزائدة استنادا إلى مجالات استعمال المياه المعالجة وفي حالة استعمالها في الري أو استصلاح الأراضي لا يتأثر ذلك بزيادة المواد العالقة في المياه المعالجة.

٤-التحكم في صرف الحمأة : من أهم أسس أسباب اختيار هذه الطريقة هو إمكانية تشغيلها بسهولة وبساطة لأن المعالجة بالتهوية المطولة تستخدم في التجمعات السكنية الصغيرة والقرى حيث يجب استخدام طرق معالجة لا تحتاج إلى مهارة فنية ، وأبسط هذه الطرق المحافظة على تركيز شبه ثابت للمواد العالقة في أحواض التهوية ، وتصريف الزائد من الحمأة ، وهذه الطريقة تعطي كفاءة عالية في المعالجة بشرط عدم تغيير تركيز المواد العضوية بدرجة كبيرة ، ويمكن المحافظة على كفاءة المعالجة بالمحافظة على نسبة ثابتة بين الأكسجين الحيوي المستهلك لمياه المجاري الداخلة لأحواض التهوية ، وتركيز المواد العالقة في هذه الأحواض سواء للمواد العالقة الكلية أو المواد العالقة الطيارة ، ولكن هذه الطريقة تحتاج إلى تحاليل معملية يومية .

خامساً: خنادق الأكسدة Oxidation ditches

وهي طريقة من طرق التهوية المطولة وتصمم بنفس الأسلوب ولكنها تعتمد على البساطة في الإنشاء والتشغيل وتتكون من واحدة أكثر من القنوات التي يتم فيها تهوية وتقليب مياه المجاري ميكانيكياً ومن ميزاتها الأساسية أن كمية الرواسب الزائدة المصروفة من أحواض الترسيب النهائية صغيرة نسبياً ومؤكسدة وتعالج فيها مياه المجاري بعد المصافي، ويمكن استخدام القنوات للترسيب أيضاً لمدة معينة مرة إلى ثلاث مرات يومياً بوقف التهوية للسماح بالترسيب وبعد ذلك يتم تصريف المياه الرائقة بعد الترسيب ويعاد تشغيل العملية، وفي أثناء فترة الترسيب يتم حجز مياه المجاري في خطوط التجميع أو باستخدام وحدتين من قنوات الأكسدة أو بتقسيم القناة إلى جزئين ولا يستخدم هذا التشغيل في التدفقات الصغيرة نسبياً ، أما في التشغيل العادي فيجب إنشاء حوض ترسيب نهائي بعد قنوات الأكسدة .

سادساً: برك الأكسدة Oxidation ponds

تعتبر برك الأكسدة أبسط الطرق على الإطلاق لمعالجة مياه المجاري والمخلفات الصناعية ويجري استخدامها بمعظم دول العالم وعلى سبيل المثال تمثل برك الأكسدة ثلث محطات معالجة المجاري في الولايات المتحدة الأمريكية، وتنشأ هذه

البحيرات بطرق هندسية بسيطة لا تتعدى في بعض الأحيان أعمال الحفر والتمهيد والتسوية إذا كانت التربة قوية متماسكة ويكون عمقها عادة صغير ومساحتها كبيرة.



شكل (٥-٨): برك الأكسدة

وتتم المعالجة في هذه البحيرات بطريقة طبيعية تعتمد على نشاط مشترك متكامل تقوم به الطحالب والبكتريا بالاستعانة بأشعة الشمس وبعض العناصر الموجودة أصلاً في مياه المجاري.

ويفضل قبل أعمال التصميم والتنفيذ عمل دراسة الأمور التالية:

- طبوغرافية المنطقة وما يحيط بها.
- طبيعة المياه الجوفية.
- خصائص التربة ومكوناتها.
- درجة الحرارة والرياح السائدة والسطوع الشمسي.
- خصائص مياه الصرف.
- شكل البحيرات المناسب وأسلوب تشغيلها الأمثل.
- تكاليف الإنشاء والأرض والتشغيل.
- مجالات استعمال المخلفات السائلة بعد معالجتها.

ويجب أن يحقق شكل البحيرات وعددها الأمور التالية:

- مرونة التشغيل.

- إمكانية وقف تشغيل أي وحدة دون التأثير على باقي الوحدات وذلك لعمل الصيانة وتفريغ الرواسب.

إذا ساعدت طبوغرافية الأرض على تصميم بحيرات طويلة بعرض صغير فهذا يعطي كفاءة أفضل بشرط تعميق البحيرة في منطقة المدخل لمرونة التشغيل، وتستخدم بحيرات الأكسدة عادة للتدفقات الصغيرة ولكن لا يمنع استخدامها للتدفقات الكبيرة عند توفر مساحات كافية من الأرض بسعر مناسب، وعلى سبيل المثال فقد استخدمت بحيرات الأكسدة في كاليفورنيا بأمريكا بمساحة ٢٥٠ هكتار وذلك لمعالجة تدفق مياه بلغ ٢٥٠٠٠٠ م٣ في اليوم.

وعموماً يمكن استخدام برك الأكسدة بعد مرحلة أو أكثر من مراحل المعالجة التالية:

- حجز المواد الطافية باستخدام المصافي.
- حجز الرمال في أحواض منفصلة.
- أحواض الترسيب الابتدائية.
- أحواض حجز الزيوت والشحوم.

مميزات برك الأكسدة

لقد بدأ الاهتمام بمعالجة المخلفات السائلة بهذه الطريقة من أجل المناطق الصحراوية الجافة والحارة خصوصاً، حيث تساعد درجات الحرارة وكذلك أشعة الشمس على نمو الطحالب التي تمد البحيرات بالأكسجين الذائب ولهذه الطريقة مزايا لا يمكن توفيرها في طرق المعالجة الأخرى وتتلخص هذه المزايا في الأتي:

١-يمكن تشغيلها بطرق كثيرة، كما أنه يمكن تغيير طريقة التشغيل في حالة زيادة الأحمال الهيدروليكية والعضوية بدون الحاجة إلى إضافة وحدات جديدة ويتم ذلك باستخدام نظام أو أكثر من النظم المستخدمة في محطة معالجة واحدة مثل استخدام بحيرات أكسدة لاهوائية تعمل كمعالجة تمهيدية لمياه المجاري، بحيرات أكسدة اختيارية، بحيرات أكسدة هوائية، بحيرات أكسدة بالهواء المضغوط، بحيرات الإنضاج، حيث يمكن ربط أكثر من طريقة من هذه الطرق في عملية معالجة واحدة حسب درجة المعالجة المطلوبة والتي ترتبط باستعمال المياه الجوفية.

٢-يمكن استخدام هذه الطريقة في الحالات التالية:

- المناطق التي توجد فيها مساحات شاسعة من الأراضي بسعر رخيص.
- عدم توفر الاعتمادات اللازمة لطرق المعالجة التقليدية المكلفة.
- عدم توافر الخبرة والعمالة المدربة لتشغيل الطرق الأخرى.

٣-إمكانية استخدام هذه الطريقة لمعالجة مياه المجاري معالجة ابتدائية ومعالجة ثانوية ومعالجة الحمأة الزائدة.

٤-الإنشاء والتشغيل والصيانة في هذه الطريقة تتم بأقل التكاليف.

٥-فعالية بحيرات الأكسدة في القضاء على البكتريا الضارة والفيروسات وبويضات الديدان الممرضة وذلك بسبب ما يلي:

- زمن التخزين الطويل الذي يسبب الترسيب المستمر للمواد العالقة فيها.
- تضارب الظروف البيئية للأنواع المختلفة من الكائنات الحية الدقيقة وتأثير بعض هذه الأنواع على الأخرى.
- تأثير أشعة الشمس.
- ارتفاع pH المياه في البرك بسبب استهلاك ثاني أكسيد الكربون بواسطة الطحالب.
- المواد السامة التي تفرزها الطحالب والتي تقاوم الكائنات الحية الضارة.
- استنفاذ المواد المغذية للبكتريا.

٦-استيعاب التغيرات الفجائية في الأحمال الهيدروليكية والعضوية.

٧-تناسب معالجة أنواع كثيرة من المخلفات الصناعية، حيث يمكن إزالة الشوائب السامة، ويرجع ذلك لزمن المكوث الطويل وارتفاع pH المياه، وقد أثبتت التجارب أن وجود المعادن الثقيلة (الكروم والكاديوم والنحاس والزنك والنيكل) بتركيز ٦ مجم /لتر لكل منها مثلاً لا يؤثر على تشغيل البحيرات.

٨-يقل تركيز المواد الذائبة الكلية نتيجة المعالجة في برك الإنضاج.

مساوئ بحيرات الأكسدة

١-انتشار الروائح والبعوض.

٢-المحتوى العالي للمواد الصلبة المعلقة.

٣-الاحتياج لمساحات واسعة لذلك يتم إنشاؤها في المناطق ذات الأراضي الرخيصة
٤-فقدان كمية كبيرة من المياه بسبب البخر.
٥-تلوث المياه الجوفية بسبب الرشح وهذا يتعلق بعامل النفاذية.

سابعاً: البحيرات المهواة Aerated lacks

تزداد أهمية هذه الطريقة مع الوقت لأنها تعطي درجة عالية من الكفاءة وتشجع على إعادة استعمال المياه المعالجة والأهم من ذلك تجعل التخلص من الحمأة أمراً بسيطاً وسهلاً لا يمكن مقارنته بطرق المعالجة الأخرى والتي تمثل الحمأة فيها مشكلة رئيسية، والمزايا التالية تجعل لهذه الطريقة أهمية خاصة في الدول النامية.



شكل (٥-٩): البحيرات المهواة

١-إن استخدام التهوية في البحيرات يتميز عن برك الأكسدة الطبيعية بصغر مساحات الأرض التي تحتاجها والتخلص من مشاكل الحشرات الضارة والرائحة.

٢-إن تهوية البرك عموماً يمكن استخدامه كطريقة متكاملة لمعالجة المخلفات السائلة التي تحتوي على تراكيز عالية من المواد العضوية أو تستخدم كمرحلة أولى قبل بحيرات الأكسدة في حال عدم توفر مساحة كافية من الأرض.

٣-في حال وجود مواد عالقة بتركيز كبير نوعاً ما بسبب عملية التهوية والمزج ، فهذا لا يؤثر في استخدام هذه المياه في الري ، أما إذا تطلب الأمر خفض تركيز المواد العالقة فيمكن استخدام بحيرات بعمق صغير تستقبل المياه من البحيرات

المهواة يحدث فيها ترسيب للمواد الرسوبية العالقة ويمكن استخدام هذه البرك في تربية الأسماك حيث تكون هذه المياه مناسبة لهذا الغرض.

٤-ملائمة هذه الطريقة لجميع مجالات إعادة استعمال المياه والتي توفرها طرق التشغيل المرنة الممكنة مثل:

أ-يمكن زيادة قوة التهوية.

ب -يمكن تعديل نسبة الحمأة المعادة.

ج -يمكن إضافة أحواض ترسيب إذا كانت البحيرات أصلاً تعمل بدون وجودها وهذا كله يزيد من سعة البحيرات في استيعاب الأحمال الهيدروليكية والعضوية المتغيرة والمتزايدة.

٥-إن تشغيل هذه البحيرات المهواة له ميزات كثيرة فمثلاً في حالة تشغيلها كبحيرات اختيارية تكون أرخص في التكاليف وأسهل في التشغيل ولكنها تحتاج إلى مساحة أرض كبيرة وفي الدول النامية تتواجد الأراضي عموماً بمساحات كبيرة، يبلغ عمق برك التثبيت المهواة بمعدل ضعف أو ثلاثة أو أربعة أضعاف عمق بحيرات الأكسدة الطبيعية.

كما أن مدة بقاء المياه في البرك المهواة يقل بمقدار النصف أو الثلث عن مدة بقاء المياه في بحيرات الأكسدة الطبيعية وعلى سبيل المثال فإن البحيرات المهواة تحتاج لمساحة تصل إلى ١٠٪ من مساحة البحيرات الطبيعية، وهذا شيء هام بالنسبة للمدن المتوسطة والكبيرة.

وبعد ذلك يتم تحويل الناتج من أحواض التهوية إلى أحواض الترسيب النهائى حيث تترسب الحمأه التى تسمى فى هذه الحالة الحمأه المتزنة والتى تحتوى على ١-٤ ٪ مواد صلبة ذات محتوى بروتينى مرتفع، حيث يعاد تدويرها مرة أخرى كلقاح لخزان التهوية والزيادة منها تخلط مع الحمأه المترسبة فى خزان الترسيب الأول ويتم التخلص منها بإحدى الطرق الأتية:

- تخمير الحمأه بالهضم اللاهوائى لإنتاج غاز الميثان (البيوجاز).
- تركيز الحمأه.
- معالجة الحمأه بالكيماويات.

- تجفيف الحمأه.
- التثبيت الهوائى للحمأه.

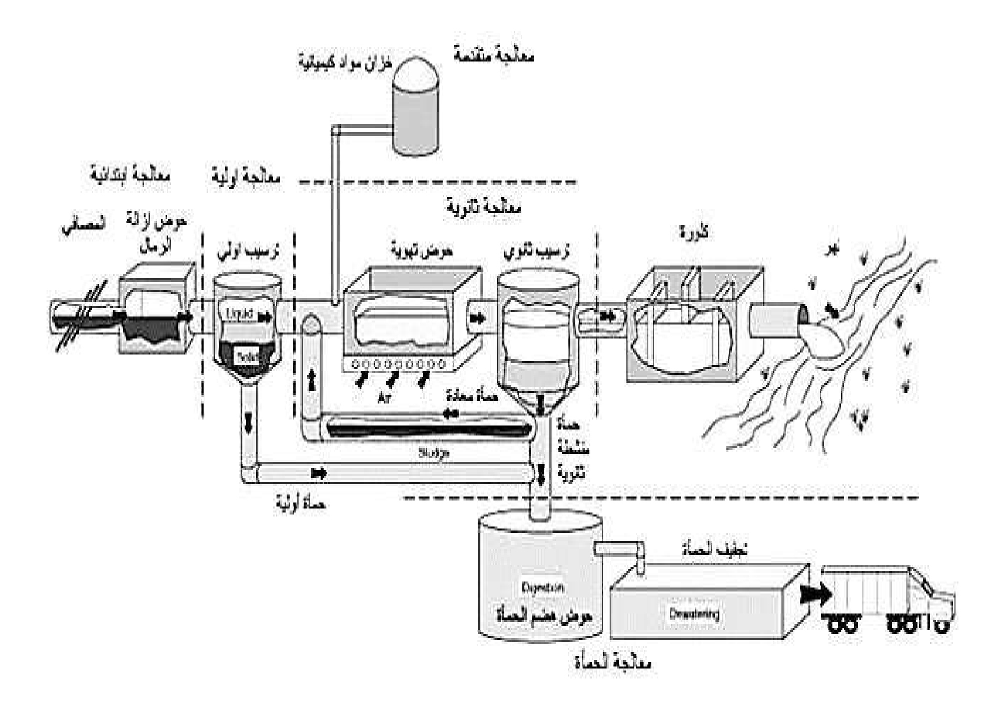
أما السائل الناتج فيتم صرفه إلى أحواض المعالجة النهائية.

المفاضلة بين نظم المعالجة بطريقة الحمأة لمنشطة وبرك التثبيت

يجمع البيولوجيون والمهندسون البيئيون والاختصاصيون في معالجة مياه الصرف الصحي على أن الخبرات العلمية العملية المتجمعة أكدت فعالية نظام المعالجة البيولوجية (التقليدية) لمياه المجاري وأفضليته على أنواع المعالجات الكيميائية والفيزيائية ، رغم تطورها وحداثتها ، ذلك أن نظام المعالجة البيولوجية لمياه المجاري يمكن التحكم به وله ميزة هامة جداً وهي أنه نظام عملي يعتمد على الكائنات الحية الدقيقة التي تستوطن مياه الصرف الصحي المنزلية والتي تقوم بعمليات المعالجة ويمكن تشبيه عملها بعملية التنقية الذاتية لمياه البحار عندما تصرف ضمنها مياه الصرف الصحي ، وهذا ما يبرر الانتشار الواسع لأنواع نظام المعالجة البيولوجية في مدن العالم المتقدم لمعالجة مياه الصرف الصحي.

ثالثا: مرحلة المعالجة الثالثية Tertiary treatment stage

هي مرحلة المعالجة النهائية للمياه والهدف منها هو تعقيم المياه وإزالة أي أجزاء صلبة أو عالقة، مما يزيد من نقاء المياه المعالجة ويتم في البداية حقن المياه المتدفقة من أحواض الترسيب بمحلول من مادة الكلورين لقتل البكتريا المسببة للأمراض ومنع تكاثرها، بعد ذلك يتم تخزين المياه بأحواض الموازنة، تعمل هذه الأحواض على تخزين المياه المعالجة معالج ثانوية في ساعات الذروة ليتم ترشيحها لا حقا على مدار اليوم، بالإضافة إلى أن الكلور يتمكن من قتل البكتريا والكائنات الدقيقة المسببة للأمراض.



شكل (٥-١٠): مخطط عام لمراحل معالجة مياه الصرف الصحي

بعد ذلك تنقل المياه من أحواض الموازنة إلى المرشحات الرملية حيث تعمل المرشحات الرملية علي إزالة بقية الجزيئات الصلبة من المياه ولمنع انسداد هذه المرشحات فهي تغسل بشكل دوري بطريقة الغسيل العكسي ثم يعاد ناتج الغسيل إلى مدخل المحطة لاستخدامها في مشاريع الري، وجميع محطات المعالجة بالمرشحات تستخدم مادة الكلور، حيث يعتمد الكلور على التفاعل التالى:

$Cl_2 + H_2O \longrightarrow HOCl$ (Hypochlorous acid)

$HOCl \longrightarrow HCl + O$ (Nascent oxygen)

حيث يقضى الكلور على البكتريا بإحدى الطريقتين الأتيتين:

١- الأكسجين أحادى الذرة الناتج من التفاعل يقضى على البكتريا عن طريق أكسدة محتوياتها.

٢- يتفاعل الكلور مباشرة مع بروتين الخلية مما يؤدى إلى وقف نشاط البكتريا وموتها، وعندما يضاف الكلور إلى الماء الذى يحتوى على مواد مختزلة ونشادر يتحد معها ويتكون الكلورأمينات (أحادية NH_2Cl أو ثنائية $NHCl_2$ أو ثلاثية

NCl_3) حتى إذا ظهر الكلور الحر فى التحليل دل على تفاعل الكلور المضاف مع النشادر الموجود كله فى الماء، وأى كلور مضاف بعد ذلك يبقى فى صورة كلور حر. ويعنى التطهير الجيد بالكلور لمياه الصرف الصحى الخارجة بعد المعالجة أن تحتوى تلك المياه على أقل من ٢٠٠ من بكتريا القولون فى كل ١٠٠ مل ماء بعد أن كانت تحتوى على ١٠^٦/١٠٠ مل وهذا يعنى القضاء على معظم الميكروبات.

ولحماية مصب المياه من الآثار الضارة للكلور فقد تم اقتراح أعلى حد للكلور فى المياه الخارجة ما بين ٠,١ – ٠,٥ مجم/لتر، وفى حالة زيادته يضاف SO_2 للتخلص من أثاره.

وتعتبر هذه المرحلة هي النهائية، وجميع محطات المعالجة مزودة بمختبرات كيميائية وبيولوجية لمراقبة جودة المياه المعالجة الداخلة والمعالجة للتأكد من صلاحيتها في أعراض الري الزراعي ومطابقتها للمعايير البيئة دولياً.

الكشف عن كفاءة معالجة مياه المجاري

Detection the efficiency of sewage treatment

يمكن الحكم على كفاءة عملية معالجة مياه المجارى بالكشف عن بكتريا *Listeria monocytogenes* حيث أن هذه البكتريا توجد بكثرة في مياه المجاري ومصاحبة لبكتريا القولون بأعداد كبيرة وهي تعيش فى مياه المجاري لمدة طويلة تصل لعدة أسابيع ، كما أنها تقاوم الكلور بدرجة كبيرة ، لذلك فإن وجودها بمياه المجاري بجانب الاختبارات الميكروبيولوجية الأخرى يؤخذ كدليل على عدم كفاءة عملية المعالجة أي على وجود ميكروبات مرضية .وهذه البكتريا عصوية قصيرة مفردة أو فى سلاسل ، موجبة لصبغة جرام ، غير متجرثمة ، متحركة، اختيارية للهواء ، وهى ممرضة للإنسان والحيوان إذ تسبب للإنسان مرضا يسمى Listeriosis (التهاب بالمخ) وتسبب للحيوان الإجهاض والتهاب الضرع والالتهاب السحائي وبالإضافة إلى ذلك فإن وجود بكتريا الـ *Salmonella* يدل أيضاً علي عدم كفاءة عملية المعالجة.

التخلص النهائى من المياه الناتجة من المعالجة

يوجد عدة طرق لذلك منها:

١- التخلص بالتخفيف

وذلك بقذفها فى الأنهار والمحيطات، وهى طريقة غير مفضلة بسبب التأثير السلبى للمخلفات على الأكسجين الذائب فى الماء.

٢- التخلص باستخدامه فى الرى بالطرق الأتية:

-الرى بالطرق العادية لبعض الأشجار البستاني

-الرى بالتنقيط فى أراضى الاستصلاح.

-الرى بالرش للزراعات التجميلية والحدائق والملاعب.

ويعتمد استخدامها فى الرى على احتوائها على بكتريا القولون ونسبة استخدامها تختلف تبعاً لقوانين كل بلد، وعموما فإن الاحتياطات الواجب مراعاتها عند استخدام مياه الصرف الصحى فى التربة:

-خفض عدد البكتريا الضارة بإضافة الكلور بنسبة ١٥-٢٠ مجم /لتر للمياه المعالجة.

-يفضل عدم رى المحاصيل قبل الحصاد بأربعة أسابيع.

-يقدر تركيز الأملاح لاختيار المحصول المناسب.

-تقدير تركيز المعادن الثقيلة.

-فحص المياه الجوفية بالأرض المراد ريها.

إعادة استخدام مياه الصرف الصحى Reusing of sewage water

تتعدد مجالات إعادة استخدام المياه وفقاً لطبيعتها ودرجة الجودة التى يتطلبها الاستخدام الجديد والجدوى الاقتصادية لتنقيتها إلى الدرجة اللازمة التى تسمح بإعادة استخدامها حيث يمثل هذا الاستخدام حلاً لمشكلة التخلص من المخلفات السائلة وإعادة استخدام مياه الصرف الصحى يتم بعد المعالجة بأحد الأساليب الأتية:

- إعادة الاستخدام فى استصلاح الأراضى الجديدة واستزراعها.
- الاستخدام فى المزارع السمكية.
- الاستخدام فى أنشطة أخرى مثل زراعة أشجار خشبية ،
- ري المسطحات الخضراء.
- تبريد المعدات بالمصانع.
- ري نباتات الزينة.

ومما لا شك فيه أنه بإعادة استخدام المخلفات السائلة المعالجة مرة أخرى والتى تمثل مصدراً مائياً لا يجب إهداره ، يمكن سد بعض العجز فى ميزان الاحتياجات المائية ولذلك تحتم فى المرحلة الحالية والمستقبلية التوسع فى تطبيق إعادة استخدام المياه .

ولكن هناك قيود وضوابط تحكم كل من هذه الاستخدامات وقد تم وضع معايير لإعادة استخدام مياه الصرف الصحى الخام والمياه الناتجة من معالجة الصرف الصحى وكذلك الحمأه .

أهمية إعادة استخدام المياه والتى تتمثل فى الأتى :

أ . توفير كميات من المياه كافية للعديد من الاستخدامات المختلفة.

ب . تخفيف العبء الملقى على الشبكات العمومية.

جـ . تخفيض التلوث الحرارى المحتمل والذى ينتج من استخدام مياه التبريد مرة أخرى فى الصناعة وعدم صرفها إلى المجارى المائية.

د . إمكانية استعادة الفاقد من الخامات المستخدمة فى الصناعة نتيجة لمعالجة المخلفات الصناعية السائلة ولا سيما فى حالة الخامات المستوردة والمرتفعة التكلفة.

وتعتبر الزراعة المجال الأكبر والمستفيد من إعادة استخدام المياه سواء الواردة من مصادر زراعية مثل مياه الصرف الزراعى أو من مصادر الصرف الصحى والصناعى بعد معالجتها إلى المعايير المناسبة باستخدام تكنولوجيا رخيصة مناسبة غير معقدة بعد التأكد من خلوها من المواد السامة والضارة مع أخذ العامل الاقتصادي فى الاعتبار.

وتتلخص المعايير التى تستخدم فى الحكم على صلاحية المياه المزمع إعادة استخدامها فى الرى فيما يلى :

• نسبة الأملاح الكلية الذائبة وهو ما يعبر عنه بدرجة الملوحة بحيث لا يتعدى تركيزها الحدود المسموح بها.

• درجة نفاذية المياه فى التربة.

• تركيز العناصر السامة أو الضارة فى المياه ووجود مسببات الأمراض الميكروبية مما يؤدى إلى انخفاض المحصول عن معدله الطبيعى.

• العوامل الأخرى والمتمثلة فى تركيز العناصر الكبرى المغذية للنبات مثل الأزوت حيث أن المحاصيل الحساسة لهذا العنصر تتأثر إذا ما زاد تركيزه.

وبصفة عامة فانه يجب فى حالة إعادة استخدام المياه فى أغراض الزراعة مراعاة النقاط الأتية :

١- توفير شبكة صرف زراعى جيدة متكاملة.

٢- الاهتمام بمتابعة مستوى الملوحة وغسيل الأراضى للمحافظة على عدم تجاوز مستوى الملوحة التى يتحملها المحصول.

٣- اختيار المحاصيل التى تتحمل الملوحة بدرجة عالية.

٤- الاهتمام بالعمليات الزراعية الأخرى مثل تسوية الأرض ضماناً لتوزيع المياه وضبط معدلات التسميد واختيار الأسلوب الأمثل للرى.

٥- الاهتمام بمعالجة المياه وتخليصها من الأيونات السامة قبل الاستخدام.

٦- خلط المياه المزمع إعادة استخدامها وبذلك يتحقق هدفين الأول هو تحسين نوعيتها ، والثانى توفير وإتاحة كميات أكبر من المياه للاستخدام وتغطية الاحتياجات المائية.

ولاشك إنه يمكن استخدام مياه الصرف الصحى فى الرى الزراعى بعد معالجتها معالجة أولية فى رى المحاصيل التى لا تستهلك استهلاكاً مباشراً بواسطة الإنسان ، بينما يرى أنه من الضرورى واللازم معالجتها معالجة ثانوية إذا ما استخدمت فى رى المحاصيل التى تستهلك مباشرة.

مجالات الاستفادة من مياه الصرف الصحى المعالج

أ . زراعة بعض المحاصيل مثل نباتات عباد الشمس وأشجار التوت لتغذية دود القز وإنتاج الحرير الطبيعى.

ب . تستخدم هذه المياه فى إنشاء زراعة ملاعب الجولف والحدائق الخاصة والعامة.

جـ . تستخدم فى أبراج التبريد بالمصانع والصناعات التى تحتاج إلى كميات كبيرة من المياه مثل صناعة الأسمنت ، مواد البناء وصناعة الورق والكرتون.

د. فى محطات الغسيل الخاصة بوحدات مترو الأنفاق والقطارات والسيارات .

هـ. خلط المياه المعالجة بمياه النهر فى بعض المناطق للاستفادة بها فى الأعمال الزراعية فى المناطق الصحراوية .

و. مشروع الغابات الشجرية وهى نقلة حضارية كبيرة فى مجال مشروعات الصرف الصحى حيث تسهم فى التخلص الأمن والفعال من مخلفات الصرف ويتم زراعتها بالمناطق الصحراوية للاستفادة فى إنتاج الأثاث.

مزايا استخدام مياه الصرف الصحى المعالج فى الزراعة

يحقق استخدام مياه الصرف الصحى المعالجة فى الزراعة فوائد كثيرة والتى تختلف باختلاف ظروف المكان ونوعية المحاصيل والمياه وطرق الرى وتتعدد المزايا منها ما يلى :

أ . ترشيد المياه بما تمثله من مورد جديد من موارد المياه للرى.

ب. استمرارية المصدر فى بعض المناطق النائية والتى يتكلف وصول مياه الرى بها تكلفة كبيرة ويكون أسلوب استخدام مياه الصرف المعالج هو الأسلوب الأنسب ، وكذلك فى المناطق المعرضة للجفاف.

جـ . القيمة الغذائية للنبات حيث يحتوى سائل الصرف على عناصر غذائية كثيرة للنبات لما يحتويه من الأزوت والفوسفور والبوتاسيوم والنحاس والحديد والزنك.

د . تحسين خواص التربة حيث يؤدى استخدام ماء الصرف الصحى المعالج إلى خفض قيمة ال pH مما ييسر امتصاص العناصر الغذائية فى التربة ، وزيادة السعة المائية للتربة وكذلك زيادة السعة التبادلية للكاتيونات.

هـ . زيادة إنتاجية المحاصيل حيث أثبتت الأبحاث الحقلية أن استخدام مياه الصرف الصحى يزيد من إنتاجية المحاصيل الزراعية ، فمثلاً ارتفع إنتاج الذرة ثلاثة أضعاف بعد أربع سنوات من استخدام مياه الصرف الصحى بالمقارنة باستخدام مياه النيل فى الرى ، وكان السبب الرئيسى لزيادة الإنتاج ليس فقط توفير العناصر المغذية الضرورية للنبات ، بل أيضا نقص الملوحة ، وخفض نسبة إدمصاص الصوديوم.

و–حماية البيئة حيث أن الأسلوب التقليدى للتصرف فى مياه الصرف الصحى هو المعالجة ثم إلقاؤها فى المصارف ، بخلاف بعض التجاوزات بإلقاء سائل الصرف الخام مباشرة فى المصارف مما يؤدى إلى أثار خطيرة على البيئة ، أما فى حالة معالجة مياه الصرف الصحى واستخدامها فى الرى فإننا بذلك نضمن عدم تلوث المصارف أو زيادة منسوب المياه الجوفية ، وعموماً فإن حماية البيئة من هذه المخلفات السائلة لا يقل أهمية عن النتائج الاقتصادية المترتبة على إعادة استخدامها بأمان ٠

ز. قلة تكاليف الإنتاج حيث أن استخدامها يقلل من استخدام الأسمدة الكيماوية ، وبالتالى يوفر مبالغ طائلة.

ح . حفظ المياه حيث يمكن حفظ المياه المعالجة عن طريق حقن التربة فى بعض المناطق النائية وسحبها فى وقت لاحق لاستغلالها فى أعمال الزراعة.

طرق معالجة الحمأه Methods of sludge treatments

تجمع المواد الصلبة الناتجة من أحواض الترسب أو من أحواض المعالجة البيولوجية وتعالج كما يلي:

أ– تخفف فى أحواض خاصة ثم تكشط وتدق وتنعم وتستعمل كسماد عضوى يسمي سماد المجاري المجفف.

ب– تخمير المواد الصلبة لاهوائيا لإنتاج الغاز الحيوى (البيوجاز) الذي يستخدم في الإنارة وكبديل للوقود.

ج– معالجة الحمأه Sludge treatment

والحمأه هى تركيز الشوائب التى يتم فصلها خلال مراحل المعالجة فى أحواض الترسيب وتهدف هذه المرحلة إلى أكسدة المواد العضوية التى لم يتم أكسدتها فى

المرحلة البيولوجية وتحويلها إلى مركبات عضوية بسيطة غير ضارة بالبيئة وذلك باستخدام البكتريا الهوائية واللاهوائية.

مكونات الحمأه Sludge components

تحتوى الحمأه على المواد الأتية :

- مركبات عضوية وهى الكربون العضوى والنيتروجين العضوى ومركباتهما وتشكل حوالى ٥٠ ٪ من إجمالي الحمأه.
- مركبات غير عضوية وهى تشمل :

١- مواد نيتروجينية وتعتبر أهم المواد فى الحمأه لأنها من المواد الفعالة فى السماد وعند تعرض الحمأه للهواء الجوى تزداد نسبة النترات وتنخفض نسبة النشادر وتتراوح نسبة النيتروجين فى الحمأه ما بين ٦ ,١ -٢, ٣٪.

٢- الفوسفات وهى من المواد الفعالة التى توجد فى السماد وتتراوح نسبة الفوسفات فى الحمأه ما بين١- ٨ ,٢ ٪.

٣- الأملاح وتشمل أملاح الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والكبريت والحديد وهذه الأملاح تؤثر على القلوية فى الحمأه وعلى عملية التخمر.

- كائنات حية دقيقة ناتجة من فضلات الإنسان والحيوان وتنقسم إلى قسمين ، قسم مفيد لعملية التخمر ، والأخر ضار يسبب العديد من الأمراض .
- زيوت ودهون تتراوح نسبتها ما بين ٥ - ١٠ ٪.

كميات الحمأه Sludge amounts

لا توجد بيانات رسمية عن كمية الحمأه المتولدة من معالجة مياه الصرف الصحى على مستوى الجمهورية، ويمكن حساب حجم الحمأه المتولدة من مياه الصرف المعالج بأسلوب تقديرى على أساس أنها توازى حوالى ١٠ فى الألف (١٪) من المخلفات السائلة .

أولاً: المعالجة الهوائية للحمأه وتشمل :

١-طريقة الكمر المزدوج للحمأه مع مخلفات عضوية أخرى مثلى مخلفات القمامة أو مخلفات زراعية.

٢-طريقة استخدام بعض المواد الكيماوية مثل الجير الحي أو تراب الأسمنت.
٣-طريقة استخدام بعض الطحالب البحرية.

ثانيا: المعالجة اللاهوائية وتشمل:

١-إنتاج الغاز الحيوي والسماد العضوي من مخلفات الحمأه.
٢-إنتاج الغاز الحيوي والسماد العضوى من مخلفات الحمأه.
٣-إنتاج الغار الحيوي والسماد العضوى باستخدام تكنولوجيا فصل المرحلتين (المرحلة الحمضية ومرحلة التخمر الميثاني) .

وكل هذه الطرق ذات كفاءة عالية فى القضاء على البكتريا الممرضة والطفيليات المختلفة والتى يتركز وجودها بكثافة عالية فى حمأه المجارى والسماد العضوى الناتج يشبه السماد البلدى المتحلل فى مظهره مع خلوه من بذور الحشائش ومسببات الأمراض البكتيرية والفيروسية أو بويضات الطفيليات مع ارتفاع قيمته السمادية.
ويتم اختيار وسيلة المعالجة بناء على المواد والشوائب التى تحتويها الحمأه وعادة ما تتم معالجة الحمأه على مراحل ثلاث هى :

١- أحواض تركيز الحمأه : ويكون الغرض من هذه المرحلة خفض نسبة الماء الموجودة بالحمأه ، حيث أنها تحتوى على حوالي ٩٥٪ من إجمالي حجمها مياه ، ونسبة المواد الصلبة حوالى ٥٪.

٢- مرحلة التخمر: وذلك باستخدام البكتريا اللاهوائية فى خزانات التخمر وتصل نسبة المواد الصلبة نحو ١٠٪.

٣- مرحلة التجفيف: وذلك باستخدام أحواض التجفيف وتصل المواد الصلبة بعد تجفيف الحمأه إلى ٨٠ ٪ من حجمها والمياه إلى ٢٠ ٪.

والجدير بالذكر أن الطريقة المتبعة فى مصر هى أحواض التجفيف نظراً لرخصها وملائمتها للعوامل الجوية مثل درجة الحرارة وقلة الأمطار ، أما أحواض الترسيب فيتم إنشاء حوضين على الأقل فى المحطة الواحدة وهى الأحواض التى تترسب بها الحمأه ويتم كسح الحمأه فى حوض الترسيب النهائى بصورة مستمرة لأنه إذا بقيت لفترة طويلة فيؤدى ذلك إلى تعفنها مما يسبب فشل عملية التنقية.

المعالجة الهوائية Aerobic treatment

(١) استخدام طريقة الكمر المزدوج للحمأه مع مخلفات عضوية أخرى مثل مخلفات القمامة أو أي مخالفات نباتية لإنتاج السماد العضوى، وهذه التكنولوجيا ذات كفاءة عالية في القضاء على الجراثيم والبكتريا الممرضة وكذلك الطفيليات المختلفة والتى يتركز وجودها بكثافة عالية في حمأه المجاري.

ويمكن إتباع هذه التكنولوجيا بشكل آمن خاصة في المناطق غير الصناعية حيث لا يوجد أي خطورة من التلوث بالعناصر السامة، ويمكن إتباع هده التكنولوجيا أيضا فى المناطق الريفية على نطاق صغير يصل إلى مستوى منزل واحد أو على مستوى قرية بأكملها ، أما بالنسبة للمدن والمناطق غير الصناعية فيمكن تنفيذها بيسر على مستوى الأحياء لإنتاج السماد العضوي الصناعي، أما بالنسبة للمناطق الصناعية فإنه يخشى من تلوث مخلفات الصرف الصحي بمخلفات الصرف الصناعى وارتفاع نسبة العناصر الثقيلة والسامة ولذلك يحب توخي الحذر عند تطبيقها ودلك بإجراء التحليلات الضرورية لمعرفة نسبة هذه العناصر وهل هي فى الحدود المسموح بها أم لا، وفى هذه الحالات يجب الحرص في استخدام هذه المواد وإضافة كميات محددة بأسس علمية ، وعموما فإن السماد العضوى الصناعي الناتج من الكمر المزدوج لمخلفات القمامة بعد فرزها أو المخلفات النباتية مثل قش الأرز- عروش النباتات- الأحطاب- الحشائش - ورد النيل- تقليم الأشجار.

والسماد الناتج من الحمأه يشبه السماد البلدي المتحلل في مظهره مع خلوه من الروائح الكريهة ومسببات الأمراض سواء البكتيرية أو الفيروسية أو بويضات الطفيليات علاوة على ارتفاع قيمته السمادية من حيث محتوى العناصر الكبرى مثل النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم أو العناصر الصغرى والتي تتواجد في المنتج بكميات مناسبة لتغذية النبات وزيادة المحاصيل الزراعية. ويمكن استخدام هذا السماد بكفاءة كبيرة في الأراضي الجديدة لرفع خصوبتها وزيادة إنتاجيتها ، وذلك بالإضافة إلي تحسين خواصها الطبيعية والكيمائية، مما يعود بالفائدة في النهاية على زيادة إنتاجية الأراضي، ويمكن استخدامه أيضاً في الأراضي القديمة لزيادة

خصوبتها وزيادة التهوية لنمو ونشاط المجموع الجذري خاصة في أشجار الفواكه والموز ، بالإضافة إلى بعض المحاصيل التي تحتاج إلى كميات كبيرة من التسميد العضوي.

فوائد الحمأه Benefits of sludge

أ . يمكن استخدام الحمأه المجففة كسماد عضوى للأراضى الزراعية حيث تم استخدامها على نطاق محدود منذ أكثر من ٦٠ عاماً فى منطقة الجبل الأصفر.

ب . يمكن حرقها فى أفران خاصة واستخدام الحرارة الناتجة من الحريق فى تسخين المياه أو للتدفئة.

جـ. تعتبر من المشروعات الاستثمارية التى تحقق عائداً مجزياً يمكن للقطاع الخاص أن يشارك فى هذا المجال.

تجهيز الحمأه للاستخدام الزراعى

بعد تجفيف الحمأه تخزن على شكل أكوام بارتفاع حوالى متر ، وتغطى بطبقة من الرمال بسمك ٣سم لمنع تكاثر الذباب على سطحها وتترك هذه الأكوام لمدة تتراوح ما بين ٢٠ – ٤٠ يوماً لتنشيط التخمر الذى يرفع درجة حرارتها إلى ٧٠ °م نتيجة التفاعلات الحيوية . وتساعد الحرارة المرتفعة فى قتل الطفيليات ويرقات الحشرات خاصة الذباب ، وتساعد على الحد من بقاء بويضات الديدان الطفيلية حية ثم يضاف إليها الإضافات المختلفة مثل الجير الحى بنسبة ٥ – ١٠ ٪، تراب الأسمنت بنسبة ٢,٥ – ٥ ٪.

مزايا استخدام الحمأه فى الزراعة

استخدام الحمأه فى الأراضى الزراعية يحقق فوائد عديدة منها :

ا . زيادة الإنتاج وتحسين خواص التربة وخفض كثافتها.

ب . زيادة معدل احتفاظ التربة بمياه الرى.

ج . تحتوى الحمأه على مواد مغذية للنبات مثل النيتروجين والفوسفات وكذلك غنية بالمواد العضوية.

د . يوفر استخدام الحمأه فى تسميد الأراضى الزراعية مبالغ طائلة بالمقارنة بالأسمدة الكيميائية .

مخاطر استخدام الحمأه فى التسميد

أ. يعتبر محتوى الحمأه من الأزوت أحد المخاطر الرئيسة لاستخدام الحمأه فى الزراعة حيث تؤدى إلى إضافة محتوى عالي من الأزوت إلى التربة وزيادة كمية النترات التى تتسرب إلى المياه الجوفية وتلوثها.

ب . تحتوى الحمأه على العناصر الثقيلة والكيماويات العضوية إذا كانت فى الحدود المسموح بها ، ولكن إذا زادت التركيزات للعناصر الثقيلة فتؤدى إلى حدوث سمية للنباتات والحيوانات.

ج. يلزم التأكد من خلو الحمأه من أى كائنات دقيقة ممرضة وطفيليات قبل استخدامها فى الزراعة ، حيث أن هذه الكائنات تؤدى إلى تلوث التربة ، وتلوث المياه الجوفية ، وتسبب أمراض خطيرة للعمال القائمين بالزراعة مثل الالتهاب الكبدى الوبائى ، والدوسنتاريا ، والتيفود والإنكلستوما .

التخلص من الحمأه السيئة Elevating from bad sludge

يلزم التخلص من الحمأه المخالفة التى لا تتواءم مع المعدلات القياسية التى تم تحديدها للاستخدام بأسلوب مناسب لا يضر بصحة الإنسان أو بالبيئة المحيطة ، سواء تربة أو مصادر مياه أو هواء وتنحصر طرق التخلص من الحمأه فى طريقتين هما:

أ . دفن الحمأه Sludge burring

وتستخدم الحمأه بعد التجفيف ، حيث يتم وضعها بعد تجفيفها فى حفر كبيرة تكون قاعدتها طبقة صماء من طبقات الأرض، ويتم تغطية كل دفعة من الحمأه بطبقة من التراب بارتفاع ٤٠ سم على الأقل ، وذلك لمنع تصاعد الروائح منها ولمنع توالد الذباب. وفى حالة عدم وجود طبقة صماء تحت سطح الأرض ، يتم حفر خنادق مستطيلة متوازية بعمق ١,٥ متر ، على أن تكون أرضية الخنادق أعلى من سطح المياه الجوفية ، وفى حالة قرب المياه الجوفية من سطح الأرض ، يلزم تبطين

أرضية وجوانب الخنادق بمادة عازلة وتلقى الحمأه فى الخنادق ، ثم تغطى بطبقة سميكة من التراب، ويراعى ألا يعاد حفر الخنادق فى ذات المنطقة إلا بعد مرور سنتين على الأقل.

ب . حرق الحمأه Sludge burning

وتستخدم للحمأه بعد التجفيف ، حيث يتم حرق الحمأه فى أفران خاصة ، وتستعمل الحرارة الناتجة من الحريق لتسخين المياه فى الغلايات أو للتدفئة أو لتجفيف الحمأه قبل حرقها وتصل درجة حرارة الحريق إلى أكثر من ١٠٠٠ ° م.

الفصل السادس

ميكروبيولوجيا الألبان ومنتجاتها

ميكروبيولوجيا اللبن الخام

اللبن الخام كبيئة غذائية Milk as a nutritional medium

يتكون اللبن بالغدد الثديية بضرع الحيوان وهو يحتوى على جميع العناصر الغذائية اللازمة للنمو ، لذلك فهو بيئة غذائية صالحة لنمو وتكاثر الكثير من الميكروبات حيث يحتوى اللبن فى المتوسط على ٨٧٪ ماء ، ٥٪ سكر لاكتوز ٣٪ بروتين (كالكازين والألبيومين) ،٣-٣,٥ ٪دهن في اللبن البقري بينما نسبة الدهن في اللبن الجاموسي من ٥,٥- ٩٪ بالإضافة إلى حوالى ١٪ عناصر معدنية من أهمها الكالسيوم وبعض الفيتامينات مثل A,E,K,B,C والإنزيمات مثل الكتاليز والليبيز والفوسفاتيز ، واللبن متعادل التأثير ذو pH حوالى ٦,٧.

ويعتبر اللبن بيئة غذائية مثالية لمعظم أنواع الميكروبات خاصة البكتريا حيث يحتوى اللبن على العناصر الغذائية الأساسية من كربوهيدرات ودهون وبروتينات وأحماض وفيتامينات وأملاح معدنية بالإضافة إلى نسبة عالية من الماء كذلك فان رقم pH اللبن يعتبر مثالياً لأغلب البكتريا، لذلك فمن المتوقع أن نجد أنواع وأصناف كثيرة من البكتريا قد لا تتوفر في أى غذاء أخر والتي تجد أنسب الظروف للنمو والنشاط في اللبن ومنتجاته خصوصا مع توفر الحرارة المناسبة .

محتوي اللبن الخام من الميكروبات

Raw milk content of microorganisms

عند فحص عينة من اللبن الخام نجد أنها تحتوى على العديد من الكائنات الحية الدقيقة والتي تصل إلى اللبن من مصادر عديدة تبدأ من داخل الضرع وجلد الحيوان ثم الأوعية والأدوات المختلفة التي تستخدم في عمليات نقل وتداول اللبن ويعتبر اللبن من أنسب البيئات لنمو وتكاثر تلك الميكروبات مما قد يسبب الكثير من المشاكل سواء باللبن الخام أو بعد تصنيعه.

وينتج اللبن ويخزن على درجات حرارة تتراوح ما بين صفر إلى ٣٠°م ، الفترة الزمنية ودرجة الحرارة التي يخزن عليها اللبن تؤثر على الأعداد الميكروبية وأنواعها فى اللبن الخام لذلك فالمحتوى الميكروبي باللبن من حيث الأعداد والأنواع يعكس صورة مباشرة للتلوث الميكروبي أثناء مراحل الإنتاج والتداول المختلفة فعندما يحلب اللبن ويترك بالمزرعة يتوقف محتواه الميكروبي على عدة عوامل هي:

١- المحتوى الميكروبي باللبن بعد عملية الحليب مباشرة.
٢- درجة الحرارة التي يحفظ عليها اللبن.
٣- الوقت الذي يمر بين إنتاج اللبن وتبريده.

ويتراوح العدد الميكروبى المقدر بطريقة الأطباق في اللبن الخام من ١x ١٠ ٣ خلية/سم٣ إلى ١x١٠ ٦ لكل سم٣ من اللبن ويقسم اللبن الخام تبعا لمحتواه من الميكروبات إلى درجات A, B, C, D ، لذلك فاللبن من درجة A يتميز بجودة عالية جدا وأعداد الميكروبات فيه اقل ما يمكن ثم تقل الجودة وتزداد الأعداد الميكروبية في اللبن ذو الدرجة B.

ولقد وجد أن العدد الميكروبى بطريقة الأطباق للبن الخام هو ١٠٠٠ خلية لكل سم٣ ، أما العدد الممكن أن يضاف أثناء المعاملات والإنتاج فيكون على الأقل مليون خلية لكل سم٣ ويكون مصدر هذه الميكروبات إحدى أو كل من الضرع من الداخل أو الخارج أو الأدوات أو الأوانى المستخدمة ، وعندما يصل العدد الميكروبي في اللبن الخام إلى أكثر من ١٠٠ ألف خلية لكل سم٣ فان ذلك يدل على حدوث أخطاء في الإنتاج والتداول وعندما تكون أقل من ١٠ آلاف خلية لكل سم٣ فان ذلك يعنى أن اللبن محلوب تحت شروط صحية جيدة ويعتبر العدد المسموح به في اللبن الجيد درجة A هو اقل من ١٠٠ ألف خلية لكل سم٣.

واللبن المتكون بضرع الحيوانات السليمة يكون خالياً من الميكروبات ويبدأ التلوث عند خروجه من الضرع من قناة الحلمة حيث يتسرب إلى اللبن عدد من الميكروبات من فتحة الحلمة تتراوح من عدة مئات إلى عدة ألاف / مل لبن ، وهى ميكروبات غير مرضية أغلبها تابع للأنواع التالية , ***Micrococcus***

Lactococcus لذلك ينصح باستبعاد الكميات الأولى من عملية الحليب أما إذا كان الحيوان مصاباً بالتهاب الضرع فإن عدد الميكروبات باللبن الناتج يزيد كثيراً.

واللبن الخام الناتج من ماشية سليمة خاليه من أى أمراض يحتوى على بعض أنواع من البكتريا ثم يزداد فيه بعد ذلك مجموعة أخرى من الكائنات الدقيقة اعتبارا من لحظة خروجه من الضرع وفيما يلي أهم المصادر التي تنتقل منها البكتريا إلى اللبن بعد حليبه من الحيوان:

مصادر تلوث اللبن Sources of milk contamination

يتعرض اللبن للتلوث بالكثير من الميكروبات من بكتريا وخمائر وفطريات وذلك منذ حلبه حتى استهلاكه ، ويتوقف نوع وعدد الميكروبات الملوثة للبن على ظروف الحيوان ، طريقة الحليب ، جو الإسطبل والتخزين عقب الحليب ، لذلك نجد أن اللبن عرضه للتلوث **Contamination** والفساد **Spoilage** بالميكروبات حيث تتوقف جودة اللبن المنتج على ظروف إنتاجه ، وعدد ما يحتويه من ميكروبات، ومن أهم مصادر تلوث اللبن ما يلى:

١- جلد الحيوان Animal skin

من المؤكد أنه لا يمكن الحصول على ألبان نظيفة من حيوانات غير نظيفة حيث أن ملايين من الخلايا البكتيرية تنتقل إلى اللبن بواسطة جزيئات صغيرة من القاذورات العالقة بضرع الحيوان أو من على جلده كما أن قذارة الحيوان لها علاقة بقذارة حلماته وبالتالي فالحيوان غير النظيف تكون حلماته أيضا غير نظيفة وبالتالي فالقطرات الأولى أثناء حلب اللبن تحتوى على أعداد ضخمة من البكتريا ، وتتوقف نظافة حلمات وجلد الحيوان على أعداد هذه الميكروبات فنلاحظ أنه في الحيوان النظيف تكون أعداد هذه الميكروبات قليلة ولكنها تزداد إلى الملايين وقد تصل إلى أكثر من ١٠٠ مليون خلية في الملى لتر الواحد من لبن الحيوانات غير النظيفة، لذلك فمن الضروري العناية بقص الشعر في منطقة الفخذ والأرداف مع التطهير المستمر للجلد والضرع حيث يعتبر هذا ضروري لإنتاج ألبان نظيفة.

٢-الحلاب Milkman

الحلاب لابد وأن يكون نظيفا خالي من الأمراض وغير حامل لها، لذلك فإن حاملي الأمراض وعلى الأخص التيفود والدفتريا لا يسمح لهم بالتواجد في أماكن إنتاج اللبن كذلك فان أيدى هؤلاء تعتبر من أهم مصادر تلوث اللبن خصوصاً إذا كانت مبتلة أثناء عملية الحليب كما يجب الاهتمام بالغسيل في حالة حلب الأبقار المختلفة لأن أيدى الحلابين في هذه الحالة تساهم في نقل مرض حمى الضرع من حيوان لآخر أما في حالة استعمال ألات الحليب فإذا لم يحسن استعمالها وتنظيفها وحفظها نظيفة معقمة فإنها تعتبر من أكثر مصادر تلوث اللبن.

٣-الهواء Air

قد يكون للهواء دور هام إذا ما كان هناك كثير من الأتربة التي تحمل الكثير من البكتريا لتسقط إلى اللبن ، وفى العادة لا يحتوى الهواء على كميات كثيرة من البكتريا ، ميكروفلورا الأجواء المحيطة باللبن تلعب دورا هاما في صفات اللبن فإذا كان الهواء أساسا ملوث بالبكتريا المتجرثمة فإن ذلك يكون من أهم أسباب ظهور العيوب الكثيرة في اللبن ومنتجاته ، وحتى يمكن تقليل أثر جو الحظائر يجب العناية التامة بالنظام وعدم إجراء عمليات التنظيف والتغذية قبل الحليب مباشرة كذلك يجب مراعاة الظروف الصحية من حيث التهوية والنظافة العامة في أماكن حلب الحيوانات، كما أن الذباب من أهم العوامل المساهمة في نقل البكتريا إلى اللبن ومن أخطرها حيث وجد أن ذبابة واحدة تستطيع نقل مئات الملايين من البكتريا ولأنها من أصل برازي فغالباً هناك خطورة احتمال وجود البكتريا المرضية.

٤-الأجهزة والأدوات Apparatus and tools

تنظيف كل أنية أو جهاز يوضع فيه أو يمر به اللبن من الأمور الهامة لتقليل المحتوى البكتيري في اللبن الخام ، لذا يجب الاهتمام التام بنظافة الأدوات والأجهزة والمحافظة عليها وتوجد طرق عديدة تستخدم في تطهير وتنظيف الأدوات مثل الكيماويات وتستعمل في مختلف أماكن الإنتاج ومصانع الألبان وقد يستعمل الماء الدافىء على ٣٥°م بقصد إزالة المكونات اللبنية ثم استعمال محلول كربونات الصوديوم ٥٪ لإزالة البروتين وبقايا الدهن ثم الغسيل بالماء الساخن حتى تمام إزالة

المادة القلوية وتجفف ، ويوجد العديد من المواد الكيماوية المستخدمة في تطهير الأدوات والألات مثل مركبات الهيبوكلوريت والكلور واليود ومركبات الأمونيوم الرباعية ويمكن استعمال الهواء الساخن كوسيلة للتجفيف والتعقيم في النهاية.

والماء المستخدم في عملية تنظيف الأدوات والأجهزة يجب مراعاة التأكد من مصدره وصلاحيته حتى لا يكون هو الأخر مصدرا لتلوث اللبن بأعداد من الميكروبات وخاصة المتجرثمة والمرضية.

إنتاج ألبان ذات جودة عالية Production of high quality milks

ظروف إنتاج اللبن والمحافظة علية في المزرعة يعتبر من الأمور الهامة جدا للحصول على ألبان ذات صفات ممتازة وللحصول على اللبن إما أن يكون ذلك يدوياً أو ميكانيكيا بألات الحليب وقد وجد أن المحتوى البكتيري متفاوت جدا في حالة الحليب اليدوي على حسب العناية حيث وجد أنه عند حلب بقرة واحدة تحت ظروف مختلفة يختلف المحتوى الميكروبي للبن الناتج ففي الظروف غير الصحية يزداد المحتوى البكتيري ولكن عند العناية وإتباع الظروف والطرق السليمة تقل الأعداد البكتيرية.

وتعتبر طريقة الحلابة الميكانيكية من الطرق المفضلة إذا أحسن استخدامها في إنتاج ألبان نظيفة حيث أنه يمكن باستعمالها استبعاد مصادر كثيرة من التي تلوث اللبن مثل الهواء وجلد الحيوان وأيدى الحلابين، وفي حالة إهمال نظافة هذه الآلات الخاصة بالحليب الميكانيكي فإن صفات اللبن قد تكون سيئة جدا وقد تصل الأعداد الميكروبية باللبن إلى مئات ألاف أو ملايين الخلايا في المللى لتر الواحد ولذلك فإن تنظيف هذه الآلات من الأهمية الشديدة حيث يجب عمل أسلوب تنظيف جيد لهذه الألات بالمطهرات والماء الدافىء وتستخدم مطهرات عديدة لهذا الغرض.

ويجب ملاحظة أن إنتاج ألبان نظيفة تحتوى على أعداد قليلة من البكتريا لا يعنى حتما ضمان سلامة مستهلكيها ، على أنه من الأفضل اتخاذ إجراءات صحيحة عند إنتاج الألبان منعا للتلوث بالبكتريا المرضية إلا أن ذلك قد يكون مكلفاً وأن أكثر الطرق نفعاً في هذا المجال ، وحتى نضمن سلامة مستهلكي الألبان هو

إجراء عملية البسترة حتى نضمن التخلص من كل البكتريا المرضية بالإضافة إلى إتباع طرق وخطط صارمة للتأكد من عدم التلوث بعد البسترة

ولكن من المرغوب فيه إنتاج ألبان ذات أعداد قليلة من البكتريا مع القول أن ذلك ممكنا تحت الظروف العادية حتى يمكن إنتاج ألبان ذات جودة بكتريولوجية عالية وهو الأساس الضروري في تصنيع المنتجات ذات الجودة البكتريولوجية ذات التسويق العالي.

درجات اللبن　　Milk grades

يشترط فى اللبن الجيد أن يكون ذا قيمة غذائية عالية وقوة حفظ Keeping quality جيدة ، وله طعم ورائحة مرغوبة وأن يكون نظيفاً مأموناً للشرب وتتخذ الأعداد العالية من البكتريا الموجودة باللبن كدليل على سوء الإنتاج والتداول واحتمال التلوث بميكروبات مرضية ، يقدر عدد البكتريا الموجودة باللبن بطريقة الأطباق وهى الأكثر شيوعاً أو بطريقة العد المباشر بالميكروسكوب أو بشريحة بريد Breed أو بسرعة تكون الحمض أو باختبارات الاختزال للون دليل أزرق المثيلين من الأزرق إلى عديم اللون ، وعلى أساس عدد الميكروبات الموجودة باللبن يقسم اللبن إلى درجات على أن يكون اللبن فى جميع الأحوال خالى من الميكروبات المرضيةPathogenic microorganisms.

جدول (٦-١): درجات اللبن الخام والمبستر

الدرجة	العدد الكلي للبكتريا/مل لبن لا يزيد عن		عدد بكتريا القولون/مل لبن لا يزيد عن
	اللبن الخام	اللبن المبستر	
أ	٢٠٠٠٠٠٠	٣٠٠٠٠٠	١-٥
ب	١٠٠٠٠٠٠٠	٥٠٠٠٠٠	١٠
جـ	بدون تحديد	بدون تحديد	بدون تحديد

العوامل التي تؤثر على أعداد وأنواع الميكروبات في اللبن الخام

١ – نمو وتكاثر الميكروبات في اللبن الخام

Growth and reproduction of raw milk microorganisms

عند فحص عينة من اللبن الخام نجد أنها تحتوى على العديد من الميكروبات والتي تصل إليه من المصادر العديدة السابق ذكرها ، حيث في المراحل الأولى من حلب اللبن لا تلاحظ الزيادة في أعداد البكتريا بل أحيانا تتناقص نظرا لاحتواء اللبن على مواد طبيعية توقف نمو البكتريا ،هذه الفترة تسمى طور النمو البطيء أو الموقف للنمو (الطور اللاجى) وإن إطالة هذه الفترة هام جدا من الناحية العملية فإذا طالت تلك الفترة يساعد ذلك على قدرة الألبان على الحفظ لفترة أطول ويتوقف ذلك على درجة الحرارة لذا فان التبريد من الأمور الهامة في تلك المرحلة وبانتهاء هذه المرحلة أى بانتهاء تأثير مثل هذه المواد المانعة يحدث نشاط سريع لكل الأنواع البكتيرية حيث تتكاثر جميع الأنواع الموجودة تبعا لدرجة الحرارة الموجودة عليها اللبن ويسمى هذا بالطور اللوغاريتمى أو طور النمو السريع ونجد أن بكتريا حمض اللاكتيك في هذه المرحلة تسود سيادة تامة حيث تحدث تخثر اللبن. وينتج عن هذا النمو تكوين حموضة بدرجة عالية تتسبب في ضعف نمو البكتريا وتجعلها تمر إلى طور الثبات أى أن أعدادها لا تزداد وقد تتناقص بقدر بسيط ثم تنشط الفطريات والخمائر التي تستهلك حمض اللاكتيك حتى تتهيأ الظروف لنمو البكتريا المتجرثمة وتحلل بروتينات اللبن.

٢ – الاحتياجات الغذائية

لكي تنمو الميكروبات لابد من توفر ما يلى:

أ– مصدر للطاقة.

ب–مصادر للمواد والمركبات التي تدخل في بناء الخلية.

ج–المعادن والمواد الذائبة الأخرى اللازمة لإتمام عمل كثير من الإنزيمات.

ويعتبر اللبن ومنتجاته من أحسن وأفضل البيئات الصالحة لنمو جميع الكائنات الحية الدقيقة التي تتعلق بصناعة الألبان.

٣ – وجود الماء

الماء يمثل الوسط الذي تنتشر خلاله جميع نواتج التمثيل التي تتخلص منها الخلايا حيث يوفر الماء البيئة التي تتوفر بها الاحتياجات الغذائية للميكروبات ويشترك الماء في العديد من العمليات الحيوية والتفاعلات الكيميائية الضرورية للحياة، والماء الحر هام جدا لنشاط الميكروبات وبالطبع فإن كمية الماء الحر الواجب وجودها تختلف من كائن حى إلى أخر ويحتوى اللبن السائل على كمية وفيرة من الماء الحر تسمح بنمو وتكاثر جميع أنواع الكائنات الحية الدقيقة ، ومن ناحية أخرى فإن وجود الماء على أسطح الأجهزة والأدوات المستخدمة في نقل وتداول اللبن يقلل من نظافتها الميكروبيولوجية.

٤–تركيز أيون الأيدروجين pH

رقم الـ pH في البيئة أو الوسط من العوامل الهامة التي تؤثر على نمو ونشاط وتكاثر الميكروبات ووجد أن معظم الميكروبات تنمو بنشاط عند pH يتراوح ما بين ٥,٧ – ٧,٥ ومن ذلك يتضح أن اللبن ذو pH مثالي لنمو ونشاط معظم أجناس البكتريا.

٥– وجود الأكسجين Presence of oxygen

يعتبر الأكسجين أهم العوامل التي تؤثر على نمو ونشاط الكائنات الحية الدقيقة وعلى أساس الحاجة للأكسجين تقسم الكائنات الحية الدقيقة إلى أربعة أقسام :

أ- هوائية Aerobic تنمو فقط في وجود الأكسجين.

ب–لا هوائية Anaerobic تنمو فقط في عدم وجود الأكسجين الجوى أو الحر.

ج–لا هوائية اختيارية Facultative anaerobic وتنمو في وجود أو عدم وجود الأكسجين.

د-كائنات قليلة الاحتياج إلى الأكسجين Microaerophilic وبذلك يمكن التحكم في درجة نشاط الميكروبات في اللبن عن طريق التحكم في كمية الأكسجين.

٦ – درجة الحرارة Temperature

درجة حرارة البيئة التي ينمو بها الكائن الحى الدقيق من العوامل الهامة في تحديد درجة نموه ونشاطه ونظرا للأنواع العديدة من الميكروبات في اللبن فإن درجة حرارة حفظ اللبن من العوامل الهامة التي تؤثر على أنواع الميكروبات التي تسود في اللبن ومن خلال معرفة أن درجة الحرارة المثلي لنمو معظم وأغلب الميكروبات هي درجة حرارة الغرفة أو أعلى قليلا لذلك فإن التبريد على درجات حرارة أقل من ٤°م من العوامل الهامة لتقليل أعداد الميكروبات في اللبن الخام.

٧ – المضادات الحيوية Antibiotics

الكثير من أجناس البكتريا حساسة للمضادات الحيوية وخاصة البكتريا المستخدمة في الصناعات اللبنية، وتعتبر المضادات الحيوية علاج هام للحيوانات المصابة بالتهاب الضرع حيث أنها تؤدى إلى الحد من نمو الميكروبات المرضية، وعلى ذلك فإن جزء من هذه المضادات الحيوية تفرز مع اللبن في الأيام الأولى من العلاج وتختلف كميتها باختلاف عوامل عديدة مثل الكمية المعطاة من المضادات الحيوية وطبيعة الحيوان ووجود المضادات الحيوية في اللبن يسبب تثبيط نمو البكتريا المستخدمة في الصناعات اللبنية وفى نفس الوقت لا يثبط نمو بعض أنواع البكتريا الأخرى مثل بكتريا القولون التي تسبب عيوب في اللبن ومنتجاته.

٨– المضادات الطبيعية في اللبن Natural antibiotics in milk

يحتوى اللبن الخام الطبيعي على كميات متباينة من عدة مواد تثبط نمو وتكاثر بعض أنواع البكتريا وقد يصل تأثيرها إلى قتلها والقضاء عليها ومنها:

أ- الجلوبيولين المناعي وينتقل إلى اللبن عن طريق الدورة الدموية.

ب-اللاكتينين ويوجد منة لاكتينين(١) ويفرز مع لبن السرسوب ولاكتينين(٢) ويفرز مع اللبن وله تأثير مثبط على العديد من البكتريا خاصة ***Lactococcus pyogenes***.

ج-لاكتوفيرين وهو بروتين مرتبط بالحديد يحمى الضرع من الإصابة البكتيرية بميكروب ***E. coli***.

د-لاكتوبروكسيديز ويخلق خلال الضرع ويوجد في اللبن بتركيز عالي ويثبط مجموعة البكتريا الكروية السبحية وله تأثير مانع لنمو ***E. coli***.

كما توجد بعض المواد الأخرى مثل فوق أكسيد الأيدروجين المفرز بواسطة بعض الميكروبات في الضرع وان فاعلية اللبن كمضاد حيوي للبكتريا تعتبر ضئيلة ولا يمكن الاعتماد عليها لتثبيط نمو مجموعة البكتريا في اللبن الخام لمدد طويلة.

وتعتبر الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة والتي يتميز اللبن بها من المواد المثبطة لنمو العديد من البكتريا وكذلك مجموعة بكتريا حمض اللاكتيك كما أن العديد من البكتريا المحللة للدهن تتعرض للموت عندما يبدأ تركيز الأحماض الدهنية في اللبن في الارتفاع في البيئة رغم أن هذه الأحماض الدهنية المنفردة هي نواتج تمثيل ونشاط هذه البكتريا.

٩ – المواد الكيميائية Chemical substances

تستخدم العديد من الكيماويات في مجال الألبان بهدف القضاء على الكائنات الحية الدقيقة غير المرغوبة والتي قد تسبب مشاكل وفساد للألبان ومنتجاتها وهى إما أن تستخدم كمواد مطهرة وذلك للقضاء على الميكروبات المرضية مثل التي تستخدم في معاملة الماء والجدران والأدوات أو تستخدم كمقاومة الفساد مثل التي تستخدم لمقاومة العفن (الفطريات) وبعض أنواع البكتريا والخمائر ويوجد مواد تقضى على الكائنات الحية الدقيقة بصفة عامة وجراثيمها ومن أهم المواد الكيميائية الشائع استخدامها هي:

أ- الأحماض.

ب-القلويات.

ج-المعادن وأملاحها.

د-فوق أكسيد الأيدروجين.

هـ-مركبات الكلور واليود.

كذلك تعتبر الخمائر والفطريات من الكائنات الحية الدقيقة التى تتواجد بالألبان ، والخمائر عبارة عن كائنات حية دقيقة وحية الخلية بيضاوية وأكبر حجماً من البكتريا وموجبة لجرام وغير متحركة وتنمو الخمائر في نطاق من الحرارة من ٢٥ - ٤٠°م ومعظم الخمائر تقاوم الحموضة وهى هوائية وزيادة الأكسجين يزيد من نموها وتنمو الخمائر فى المعمل على بيئات كثيرة كما أنها تنتج روائح وألوان حمراء وزرقاء وأهم ما يميز الخمائر عن البكتريا أن خلاياها تحتوى على نواة كبيرة واضحة تنقسم عند حدوث انقسام في الخلية يبقى نصف النواة في الخلية ألام وينتقل النصف الأخر في الخلية الجديدة ويعرف هذا التكاثر بالتكاثر بالتبرعم وقد تتكاثر الخمائر جنسياً وتكون جراثيم أسكية تعرف بالخمائر الحقيقة وتعرف بأنها فطريات أسكية وحيدة الخلية والتي لا تكون جراثيم أسكية تعرف بأنها خمائر كاذبة.

والخمائر إما أن تخمر اللاكتوز أو لا تخمره كذلك هناك أنواع تحلل الدهن مثل *Candida lipolytica* كذلك منها ما يكون جراثيم مثل *Saccharomyces* وتلعب الخمائر دورا هاما في الألبان ومنتجاته حيث أنها تخمر سكر اللاكتوز مثل أنواع جنس *Kluyveromyces* والتي تستخدم في صناعة أحد الألبان المتخمرة وهو الكيفير وقد تتسبب الخمائر الكثير من العيوب في الطعم والمظهر.

أما عن الفطريات فهى تكون خلايا راقية (حقيقية النواة) تعتمد على التغذية العضوية وتقوم بأكسدة هذه المواد للحصول على القليل من الطاقة وتتكاثر عن طريق تكوين العديد من الجراثيم عدا القليل منها والذي يتميز بطرق تكاثر أخرى كما أن جزء من الميسيليوم يمكنه النمو ليكون فطر كامل .

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Saccharomycetes

Order:Saccharomycetales

Family:Saccharomycetaceae

Genus: ***Candida*** **Species:** ***Candida lipolytic***

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Saccharomycetes

Order:Saccharomycetales

Family:Saccharomycetaceae

Genus: ***Kluyveromyces*** **Species :** ***Kluyveromyces***

والفطريات تتكون من خيوط رقيقة متشعبة يسمى كل منها بالهيفا ومجموعها يكون الميسيليوم (العفن) وتتكاثر الفطريات بواسطة الجراثيم الجنسية وتعرف بالفطريات الكاذبة وقد تتكاثر بجراثيم لا جنسية.

والفطريات عبارة عن كائنات حية دقيقة عديدة الخلايا قادرة على تحليل الكربوهيدرات والدهن وبعضها يهاجم البروتينات كما أنها تنمو هوائياً في نطاق واسع من درجات الحرارة وpH إلا أن الفطر يفضل البيئات الحمضية، الفطريات بصفة عامة غير مقاومة للحرارة وتكون جراثيم تكون أكثر مقاومة للحرارة عن الفطر نفسه ومعظم الفطريات لا تنمو في اللبن ولكنها تنمو في كثير من المنتجات اللبنية ، وتلعب الفطريات دورا هاماً في مجال الألبان وقد يكون دورها مفيد حيث يستخدم البعض منها في صناعة بعض أنواع من الجبن مثل الجبن الأزرق أو المعرق بالفطر(الركفورت) ويستخدم لذلك فطر ***Penicillium roqueforti.***

كذلك يستخدم فطر ***P. camemberti*** **في صناعة الجبن الكممبرت الذي ينمو على سطحها ويكسبها الطعم والرائحة المميزة لهذا الصنف من الجبن ، ومن ناحية أخرى قد تسبب بعض الفطريات كثير من المشاكل في مجال الألبان مثل نمو الفطريات على سطح بعض المنتجات كالزبد والجبن والألبان المتخمرة مكونة بقع ذات ألوان مختلفة كذلك بعض الأنواع قد تنمو في الألبان المكثفة المحلاة وتكون بها عيوب مثل عيب تكون الأزرار.**

أنواع الميكروبات الموجودة باللبن الخام

Microorganisms in raw milk

تنتقل الميكروبات إلى اللبن الخام من مصادر عديدة وكل مصدر من هذه المصادر يضيف إلى اللبن أنواع معينة من الميكروبات ومن أهم أنواع الميكروبات التي قد تصل إلى اللبن من المصادر المختلفة:

١-الميكروبات التى تنتقل عن طريق ضرع الحيوان

Microorganisms transmitted by animal udder

من أهم الأجناس التي تنتقل إلى اللبن من ضرع الحيوان هي جنس ***Streptococcus*** ***Micrococcus,*** وبعض أفراد من جنس ***Corynebacterium*** السالبة لجرام حيث أن هذه الأعداد تزداد في بداية عملية الحلابة ثم تقل بعد ذلك لذلك ينصح باستبعاد الكميات الأولى إثناء عملية الحليب نظرا لزيادة أعداد الميكروبات بها، كذلك إذا كان الحيوان مصاب بمرض التهاب الضرع فيحتمل وصول سلالات من النوع ***Staphylococcus*** ، كذلك إذا كان الحيوان مصاب بمرض البروسيلا فمن المحتمل وجود أفراد هذا الجنس، وإذا كان الحيوان مصاب بمرض السل فمن المحتمل أن تتواجد الميكروبات المسببة لهذا المرض فى اللبن الناتج.

- جنس ***Micrococcus***

من صفات هذا الجنس:

١-بكتريا موجبة لصبغة جرام.

٢- عادة مقاومة للملوحة حيث تنمو في وجود ٥% ملح وحتى ٧,٥%.

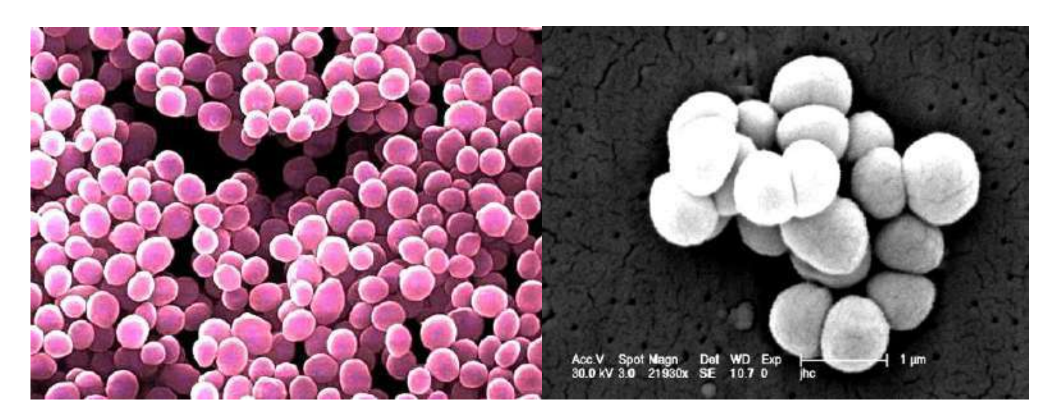
٣- حرارتها المثلي للنمو هى ٢٥ - ٣٧°م.

٤- تتواجد في الألبان المعاملة بالحرارة ومنتجات الألبان وتنمو على سطح الجبن مثل جبن البريك **Brick cheese**.

٥- تنمو في محلول سكري ٦٠% لذلك تسبب فساد الألبان المركزة والمحلاة وتخثرها.

ومن أهم أنواع هذا الجنس ما يلي:

Micrococcus varians, Micrococcus luteus



شكل(٦-١) بكتريا: ***Micrococcus* sp.**

- جنس ***Streptococcus***

من صفات هذا الجنس ما يلي:

١- بكتريا كروية موجبة لصبغة جرام أو بيضاوية وتوجد في أزواج أو في سلاسل.

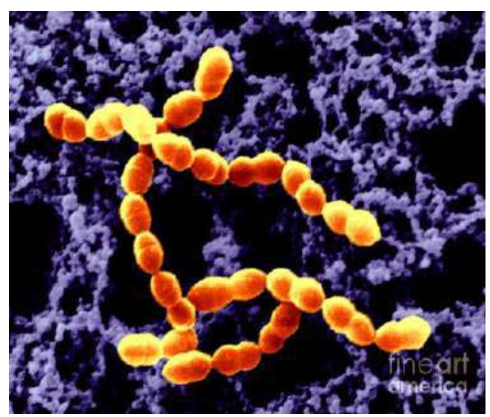
٢- معظمها لا هوائية اختيارية وبعضها لا هوائية حتمية.

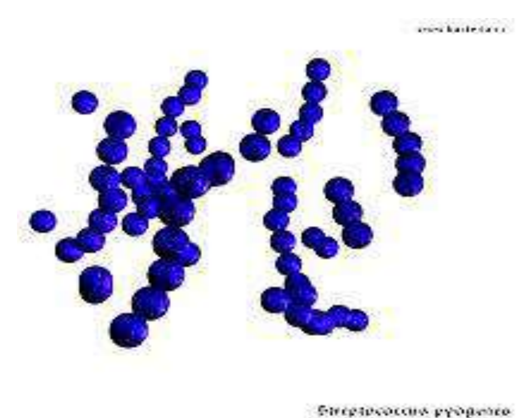
٣- متجانسة التخمر اى أنها تنتج حامض لاكتيك وإيثانول وثاني أكسيد الكربون.

٤- بعضها يحتاج إلى ثاني أكسيد الكربون للنمو.

٥- غير منتجة للكتاليز.

٦- غير متحركة.





شكل(٦-٢) بكتريا: *Streptococcus* sp.

ويعتبر جنس ***Streptococcus*** من أكثر الأجناس البكتيرية أهمية في الألبان ومنتجاتها ويوجد من هذا الجنس أربعة مجاميع هامة حيث تشمل إحدى مجموعاتها على بعض الأنواع المرضية سواء للإنسان أو الحيوان مثل:

1- ***Streptococcus pyogenes***

يعتبر هذا الميكروب ممرض للإنسان ويسبب بعض أنواع الحمى (الحمى القرمزية) والتهاب الحلق وقد يصيب الإنسان المريض ضرع الحيوان بهذا الميكروب ويسبب التهاب الضرع وتعتبر البسترة التامة كافية للقضاء على هذا الميكروب.

2- ***Streptococcus agalactiae***

ميكروب يسبب التهاب الضرع **mastitis** حيث أمكن عزلة من ضرع ولبن الحيوانات المصابة بهذا المرض ولكنة غالباً غير ممرض للإنسان.

كما يشتمل هذا الجنس على بعض المجاميع الهامة في صناعة الألبان ومنها:

3- ***Streptococcus thermophilus***

يعتبر من الميكروبات الهامة في صناعة الجبن والألبان المتخمرة مثل الزبادي ولكن هذا الميكروب حساس لوجود المضادات الحيوية لذلك يستعمل هذا النوع للكشف عن المضادات الحيوية كما أنه يقاوم بعض السموم المنتجة من الفطريات وتعتبر درجة حرارة ٣٧ – ٥٠°م مثالية لنموه.

4- ***Streptococcus bovis***

لوحظ أن هذا الميكروب يقاوم حرارة البسترة وينتشر في لعاب وأمعاء وبراز الماشية وينتقل إلى اللبن.

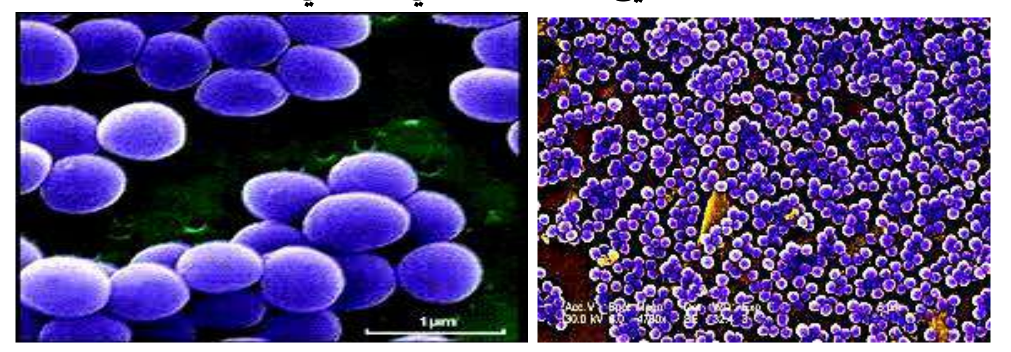
- جنس *Staphylococcus*

من صفات هذا الجنس ما يلي:

- بكتريا توجد في شكل خلايا فردية أو في أزواج أو تجمعات غير منتظمة وهى كروية موجبة لجرام وغير مكونة للجراثيم.
- هوائية اختيارياً وموجبة لصبغة جرام.
- تنمو في وجود نسب الملح المرتفعة حتى ١٠%.
- حرارة النمو المثلي لها من ٣٠ – ٣٧م.
- وهى سلالات ممرضة للإنسان والحيوان ومنتجة للسموم الخارجية كما أن سلالات هذا الجنس لها القدرة على تحليل البروتين والدهن مائياً ومن أهم سلالات هذا الجنس:

Staphylococcus aureus

يسبب التهاب الضرع في الماشية كما يسبب تسمم في بعض المنتجات اللبنية مثل الجبن واللبن المجفف عن طريق التوكسينات التي تفرز في اللبن.



شكل (٦–٣): بكتريا *Staphylococcus aureus*

٢–الميكروبات التى تنتقل عن طريق جلد الحيوان

Microorganisms transmitted by animal skin

قد يكون جلد الحيوان مصدرا لتلوث اللبن بكثير من القاذورات مثل الروث والأتربة وقد تكون عالقة بجلد الحيوان وتسقط باللبن أثناء عملية الحليب وتصبح

مصدرا لأنواع كثيرة من الميكروبات من أهمها أجناس *Clostridium, Bacillus,* *Escherichia, Enterococcus* ، كذلك المياه المستخدمة في الغسيل قد تكون مصدرا لميكروب *Pseudomonas* لذلك يجب العناية بجلد الحيوان للتقليل من أعداد الميكروبات التي تصل إلى اللبن عن هذا الطريق.

٣-الميكروبات التى تنتقل عن طريق الأوعية والأدوات

Microorganisms transmitted by apparatus and containers

وهى من أخطر مصادر التلوث حيث تلوث اللبن بأعداد وأنواع عديدة من الميكروبات وأهمها مجموعة بكتيريا القولون Coliforms وهناك أيضا أنواع عديدة ومتعددة من الخمائر والفطريات قد تصل إلى اللبن وهذه المجاميع البكتيرية عندما توجد باللبن الخام فإنها تؤدى إلى إحداث تغيرات حيوية وكيميائية في اللبن، كما أنها قد تسبب أمراضاً مختلفة للإنسان عند تناوله اللبن بصورته الخام دون معاملة حرارية.

تأثير درجات الحرارة علي ميكروبات اللبن

Effect of temperature on milk microorganisms

الميكروبات التى تتواجد باللبن ذات احتياجات حرارية مختلفة فمنها المحب للبرودة Psycrophilic والذى يستطيع النمو قرب الصفر المئوي ومنها المحب للحرارة المتوسطة Mesophilic والذى يسود على درجة حرارة الغرفة ومنها المحب للحرارة المرتفعة Thermophilicحيث يستطيع النمو على درجات حرارة أعلى من ٦٥° م ومنها المقاوم للحرارة والذى يظل حى حتى بعد البسترة.

ويلاحظ أنه:

- عند درجات الحرارة المنخفضة يقف نشاط البكتريا المنتجة للأحماض وتنشط البكتريا المحللة للبروتين.
- عند درجات الحرارة المتوسطة تنشط البكتريا المنتجة للأحماض ويقل نشاط البكتريا المحللة للدهون والبروتين.

- عند درجات الحرارة العالية أى عند غلى اللبن تموت البكتريا المنتجة للأحماض وتبقى جراثيم البكتريا التى تنمو وتنشط وتحلل البروتين.

العمليات التى يتعرض لها اللبن بعد عملية الحليب

التبريد Cooling

عقب الحليب يبرد اللبن مباشرة إلى درجة ٤–٥ ° م لإيقاف نمو وتكاثر الميكروبات الموجودة به ويجب المحافظة على هذه الدرجة عند نقل اللبن وتداوله.

البسترة Pasteurization

تعتبر البسترة من طرق حفظ اللبن المناسبة لأنها تحافظ على مكوناته الغذائية ، خاصة الفيتامينات والكالسيوم ، ولا تؤدى إلى تغيير يذكر فى طعمه أو مظهره، وتتم البسترة بتسخين اللبن لدرجة حرارة أقل من الغليان Boiling حيث يتم القضاء على٩٠ –٩٩٪ من البكتريا الحية الموجودة باللبن ويتضمن ذلك القضاء على أغلب الميكروبات المفسدة للبن وكل الميكروبات المرضية والتى من بينها ميكروب السل وهو من أشد الميكروبات المرضية غير المتجرثمة الموجودة باللبن ويتميز بمقاومته للحرارة Thermoduricحيث لا يموت إلا بتعرضه لدرجة حرارة ٦١,١ ° م لمدة١٠ دقائق.

اختبار الفوسفاتيز Phosphatase test

يؤخذ اختبار إنزيم الفوسفاتيز كدليل على مدى كفاءة عملية البسترة وخلو اللبن من الميكروبات المرضية لأنه يوجد فى اللبن الخام وفى كثير من الأنسجة وهو لا يوجد فى اللبن المبستر لأنه يتلف بالبسترة.

لإجراء الاختبار يضاف جزء من اللبن المراد اختباره إلى مادة فوسفاتية هى داى صوديوم فينيل فوسفات ومحلول منظم من بورات الصوديوم مع صودا كاوية ويحضن الخليط على درجة حرارة ٤٠ ° م لمدة ١٥ دقيقة ، إذا تواجد الإنزيم فإنه يحلل المادة الفوسفاتية وينفرد منها الفوسفات والفينول ويكشف عن الفينول المتكون بدليل 2,6 dichloro quinone chloro imide (CQC) فى وجود كبريتات النحاسيك $CuSO_4$ كعامل مساعد فإذا تكون لون أزرق من الإندوفينول Endo

phenol دل ذلك على وجود إنزيم الفوسفاتيز وبالتالى يدل على عدم كفاءة عملية البسترة ، ويمكن استخلاص اللون الأزرق بواسطة كحول البيوتانول ومقارنة اللون المتحصل عليه مع ألوان قياسية ، ويعتبر اللبن وسطاً مثالياً لجميع أنواع الكائنات الحية الدقيقة خاصة البكتريا حيث يحتوى اللبن على العناصر الغذائية الأساسية من كربوهيدرات ودهون وبروتينات وأحماض وفيتامينات وأملاح معدنية بالإضافة إلى نسبة عالية من الماء كذلك فإن رقم pH للبن يعتبر مثالياً لأغلب هذه البكتريا لذلك فمن المتوقع أن نجد أنواع وأصناف كثيرة من البكتريا قد لا تتوفر في أى غذاء أخر والتي تجد انسب الظروف للنمو والنشاط في اللبن ومنتجاته خصوصاً مع توفر الحرارة المناسبة، وتلعب البكتريا دورا هاماً في الألبان والصناعات اللبنية الأمر الذي يقتضى معه دراسة هذه الكائنات الحية الدقيقة بعناية شديدة، ومن أهم أنواع الميكروبات التي تتواجد في اللبن الخام والتي قد تصل إليه من مصادر مختلفة ما يلى:

١- مجموعة البكتريا الكروية صغيرة الحجم وتوجد في مجاميع غير منتظمة وموجبة لجرام مثل التابعة لجنس *Micrococcus*.
٢- مجموعة البكتريا الكروية التي توجد في أزواج أو في سلاسل قصيرة وموجبة لجرام مثل مجموعة *Streptococci, Lactococci*.
٣- خلايا عصوية وطويلة توجد في سلاسل طويلة مثل جنس *Bacillus*.
٤- مجموعة البكتريا العصوية التي توجد في سلاسل مثل *Lactobacillus*.
٥- مجموعة البكتريا العصوية القصيرة السالبة لصبغة جرام مثل مجموعة الكوليفورم Coliform وجنس *Pseudomonas*.
٦- أنواع أخرى من الكائنات الحية الدقيقة وتشمل الفطريات والخمائر وأنواع من البكتريا المكونة للبن الخيطى.

ميكروبيولوجيا اللبن المبستر

Microbiology of pasteurized milk

تجرى عملية البسترة بغرض إطالة مدة حفظ اللبن وكذلك القضاء التام على الميكروبات المرضية وعلى أكبر عدد من الميكروبات الأخرى والإنزيمات التي تسبب فساد المنتجات اللبنية مع ضرورة المحافظة على خواص اللبن الكيميائية والطبيعية والحسية وعادة تتم البسترة بإحدى الطريقتين التاليتين:

١- البسترة البطيئة: (Low temperature long time (L.T.L.T وفيها يتم تعريض اللبن لدرجة حرارة ٦٣°م ويحفظ على هذه الدرجة من الحرارة لمدة نصف ساعة أى أن اللبن يتعرض لدرجة حرارة منخفضة ووقت طويل ثم التبريد السريع.

٢- البسترة السريعة (High Temperature Short Time (H.T.S.T وفيها يتعرض اللبن لدرجة حرارة ٧٢°م لمدة ١٥ ثانية أى حرارة عالية ووقت قصير ثم التبريد السريع.

وكلتا الطريقتين تفي بالغرض وهو القضاء التام على جميع الميكروبات المرضية وقد اختيرت هذه الدرجات من الحرارة مع المدد الزمنية السابقة بحيث تكون

أعلى قليلاً من الدرجات القاتلة لأكثر الميكروبات المرضية المقاومة للحرارة وهى ميكروب السل ***Mycobacterium tuberculosis*** والريكتسيا المسببة لحمى كيو (Q) ***Coxiella burnetii*** حيث وجد أن ميكروب السل يقتل عند درجة حرارة ٦٣°م أما الريكتسيا المسببة لحمى كيو(Q) فتقتل عند المعاملة الحرارية على ٥٧,٥°م، وعملية البسترة كذلك تقضى على أغلب البكتريا الخضرية (غير المتجرثمة) فتزيد بذلك فترة حفظ اللبن دون فساد كما لا يحدث تغير في صفات اللبن الطبيعية أو الكيميائية.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Class:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Family:Mycobacteriaceae

Genus:*Mycobacterium*

Species*:Mycobacterium tuberculosis*

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Legionellales

Family:Coxiellaceae

Genus:*Coxiella*

Species:*Coxiella burneti*

يحتوى اللبن على مجموعة كبيرة من البكتريا متباينة من حيث المقاومة للحرارة معظمها من الأنواع الحساسة للمعاملة الحرارية ويمكن القول بأن البسترة تقضى على ميكروب السل وميكروب حمى كيو Q والميكروبات الأخرى كذلك

مجموعة بكتريا القولون بجانب القضاء على حوالي ٩٩٪ من الأنواع الأخرى، وعموما فإن ارتفاع أعداد البكتريا فى اللبن المبستر يدل على أن أعداد البكتريا المقاومة للحرارة في اللبن الخام قبل إجراء البسترة مرتفع وتتركز الخطورة في أن مجموعة البكتريا المحبة للحرارة المرتفعة Thermophilic قد تنمو أثناء المعاملة الحرارية للبن مما قد يسبب بعض المشاكل مثل تكوين طعم غير مرغوب أو ارتفاع حموضة اللبن مما يؤدى إلى تجبنه أثناء البسترة.

الميكروبات التي تتواجد باللبن بعد البسترة

Microorganisms coexist in milk after pasteurization

- البكتريا المحبة للحرارة Thermophilic bacteria وهى التي لها القدرة على النمو والتكاثر على درجة حرارة ٥٥°م وتشكل هذه البكتريا مشكلة في اللبن المبستر خاصة إذا ترك على حرارة ٥- ٧°م حيث تنمو وتسبب طعم غير مرغوب وأهم أمثلة هذه المجموعة هي ***Lactococcus thermophilus*** وبعض أفراد من جنس ***Bacillus*** وجنس ***Clostridium***.
- البكتريا المقاومة للحرارة Thermoduric bacteria وهى البكتريا التي تقاوم درجة حرارة البسترة لكن لا تستطيع النمو عليها مثل بعض أجناس ***Lactococcus***, ***Microbacterium*** ومصدر هذه الميكروبات المقاومة للحرارة في اللبن المبستر هي الألات وأوانى الحلابة الغير معتنى بنظافتها وأدوات التعبئة والأدوات التي بها شقوق وعن طريق الأشخاص.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Firmicutes

Class:Bacilli

Order:Lactobacillales

Family:Streptococcaceae

Genus:*Lactococcus*

Species:*Lactococcus lactis*

Microbacterium

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Class:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Suborder:Micrococcineae

Family:Microbacteriaceae

Genus:*Microbacterium*

Type species:*Microbacterium lacticum*

- **البكتريا المحبة للبرودة Psycrophilic bacteria وتوجد بعض أنوع من البكتريا المقاومة للحرارة وتستطيع النمو على درجات حرارة منخفضة مثل *Str. faecalis* كما أن البكتريا المحبة للبرودة يمكن أن تكون ضمن الفلورا الطبيعية للبن المبستر كنتيجة مباشرة لحدوث تلوث بعد البسترة أو عدم كفاءة عملية البسترة ، كما أن وجود البكتريا المحبة للبرودة والتي تستطيع النمو على ٧°م ينتج عنة الكثير من العيوب مثل طعم الفاكهة والطعم الزنخ والطعم الحمضى وتظهر عيوب في اللون وعيب اللبن الخيطى وهذه العيوب لا تظهر في اللبن المبستر إلا بعد عدة أيام وإجراء البسترة بكفاءة يؤدى إلى القضاء على معظم أفراد هذه المجموعة ومن أهم الأنواع المسببة للعيوب هي السلالات التابعة لأجناس *Lactococcus, Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium.***

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Betaproteobacteria

Order:Burkholderiales

Family:Alcaligenaceae

Genus:*Alcaligenes*

Species:*Alcaligenes faecalis*

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Bacteroidetes

Class:Flavobacteriia

Order:Flavobacteriales

Family:Flavobacteriaceae

Genus:*Flavobacterium*

Species: *Flavobacterium* sp.

- **البكتريا المتجرثمة وخاصة التابعة لأجناس *Bacillus* الهوائية و*Clostridium* اللاهوائية.**
- **ميكروبات القولون Coliform group حيث تعتبر أجناس هذه المجموعة من البكتريا التي لا تتحمل الحرارة وخاصة حرارة البسترة لذلك فان وجودها في اللبن المبستر يعتبر دليلا على عدم كفاءة عملية البسترة أو التلوث بعدها إلا أنه عزلت بكتريا من هذه المجموعة تقاوم الحرارة ولكنها ليست لها تأثير كبير على اللبن المبستر ويرجع وجود بكتريا القولون في اللبن المبستر بأعداد كبيرة للأسباب الأتية:**

أ- عدم نظافة وتعقيم الأدوات والأجهزة والمعدات التي يمر بها اللبن بعد بسترته بكفاءة عالية.

ب-وجود نتؤات أو تجويفات في الأجهزة والمعدات والتي يتراكم بها بقايا اللبن ومن الصعب تنظيفها.

ج-عدم الاهتمام بنظافة العاملين القائمين بتركيب الأجهزة والمعدات.

ميكروبيولوجيا اللبن المعقم

Microbiology of sterilized milk

يعتبر التعقيم أحد أهم طرق المحافظة على اللبن وسلامة استهلاكه خصوصاً في المناطق الحارة، ويتميز اللبن المعقم بإمكانية حفظه وتخزينه بدون تبريد إلى مدد زمنية طويلة وتجرى عملية التعقيم بإحدى طريقتين:

١-الطريقة العادية: حيث يتم تعريض اللبن إلى درجات حرارة تتراوح ما بين ١١٠ إلى ١٢٠م لمدة ١٠ إلى ٢٠ دقيقة ثم التعبئة في عبوات مناسبة.

٢- معاملة اللبن بدرجات حرارة عالية لمدة قصيرة : وفيها يتم تعريض اللبن إلى درجات حرارة تتراوح ما بين ١٣٥ - ١٥٠°م ولمدة زمنية ما بين ٢ - ١٥ ثانية ثم التعبئة في عبوات مناسبة تحت ظروف كاملة التعقيم.

ويعاب على الطريقة الأولى أن اللبن الناتج قد يكتسب الطعم المطبوخ أو المحروق ولكن الطريقة الثانية يكون طعم اللبن مقارب للبن المبستر ويجب أن يكون اللبن الخام المعد للتعقيم ذو صفات بكتريولوجية معتدلة وعلى وجه الخصوص في محتواه من الميكروبات المتجرثمة حيث أن جميع الأبحاث تشير إلى أن المشاكل البكتريولوجية في صناعة اللبن المعقم تتعلق أساسا بأنواع البكتريا المتجرثمة وخاصة التابعة لجنس *Bacillus* وجنس *Clostridium* حيث أن هذه الأجناس

لها القدرة على تكوين جراثيم شديدة المقاومة للحرارة ولعوامل أخرى كثيرة ومن هذا يتضح أن جراثيم البكتريا التابعة لجنس ***Bacillus*** تعتبر السبب الرئيسي للعيوب التي قد تحدث في اللبن المعقم مسببة فساد حيث تسبب ما يلى:

١- تحلل الدهن وتتسبب فى تجبن اللبن.

٢- ظهور الطعم المر.

٣- تعطى الطعم المؤكسد.

٤- منها أنواع تعطى أطعمة غير مرغوبة أخرى.

٥- هناك سلالات تسبب حدوث تخثرات غازية شديدة وخاصة النوع التابع لجنس ***Clostridium***.

ويرجع وجود البكتريا في اللبن المعقم إلى:

١- عدم كفاءة عملية التعقيم وفى هذه الحالة يوجد العديد من أنواع البكتريا المتجرثمة.

٢- وجود أنواع من البكتريا المتجرثمة تقاوم معاملات التعقيم المستخدمة.

٣- حدوث تلوث بعد عملية التعقيم وفى هذه الحالة يمكن وجود أى نوع من أنواع البكتريا سواء المتجرثمة أو غير المتجرثمة.

وللتغلب على مشاكل هذه الأنواع من البكتريا فان أفضل السبل هو نظافة وتعقيم الأدوات والأوعية لذلك يجب فحص اللبن المعقم باستمرار للتأكد من كفاءة عملية التعقيم حيث يمكن إجراء الاختبارات الأتية:

١- التحضين على ٣٢°م لمدة ١٤ يوم أو على ٥٥°م لمدة ٧ أيام ويجب أن يكون اللبن خالى من أى نموات بكتيرية.

٢- اختبار التعكير والذى يدل على كمية الميكروبات الموجودة.

التغيرات الحيوية والكيميائية التى تحدث فى اللبن ومنتجاته

Bio- chemical changes occur in milk and its products

المجاميع البكتيرية عندما تتواجد باللبن الخام فإنها تؤدى إلى إحداث تغيرات حيوية وكيميائية وقد تكون تلك التغيرات مرغوبة أو مسببة للفساد وأهم هذه التغيرات

أولاً: الميكروبات المخمرة للسكريات

Sugar fermentative microorganisms

تقوم بعض الميكروبات بتخمير اللاكتوز وتكون حمض لاكتيك بدرجة كبيرة وكافية لتجبن الكازين لذلك تسمى ببكتريا حمض اللاكتيك الحقيقية ويمكن تقسيمها إلى نوعين:

١- ميكروبات حمض اللاكتيك الكروية ومنها الذي ينمو على درجة حرارة الغرفة وتكون خثرة حمضية مثل أنواع ***Lactococcus*** مثل ***Lactococcus lactis*** **ss.** ***lactis*** وكذلك ***Lactococcus lactis*** **ss.** ***cremoris*** ومنها الذي ينمو على درجة حرارة ٤٥°م ويكون خثرة حمضية مثل ***Lactococcus thermophilus***.

ميكروبات حمض اللاكتيك العصوية والتى تسبب أيضا تجبن حمضى في اللبن مثل التابعة لجنس ***Lactobacillus*** والتى منها ***L. acidophilus, L. lactis*** . وكذلك ***L. casei, bulgaricus*** **ss.** ***L. delbrueckii L. helveticus***.

ويلاحظ أن أقصى درجة حموضة تنتجها بكتريا حمض اللاكتيك الكروية هى ١٪ بينما بكتريا حمض اللاكتيك العصوية تنتج ٢٪ أو أعلى من ذلك ووجد أن بكتريا حمض اللاكتيك العصوية تستمر في النمو بعد أن يقف نمو بكتريا حمض اللاكتيك الكروية والتي يقف نموها بزيادة الحموضة حيث يصحب التجبن الحادث بفعل هذه الميكروبات طعم حلو نظيف بينما عند وجود بكتريا القولون فإنها تنتج حمض لاكتيك مصحوباً بطعم غير مرغوب نظرا لان هذه المجموعة تحلل الدهن والبروتين تحليل جزئى، وبكتريا حمض اللاكتيك تعطى خثره ناعمة وصلبة بدون انفصال شرش أو تكوين غازات وهذا النوع من التجبن مرغوب في صناعة الجبن والألبان المتخمرة ولكن بكتريا القولون تخمر السكريات وتنتج خثره ضعيفة ويحدث انفصال للشرش وتكوين غازات وهو نوع غير مرغوب فيه وهناك بعض الميكروبات تخمر السكريات وتنتج حموضة بدون حدوث تجبن.

ثانياً: الميكروبات المكونة للزوجة

Viscosity forming microorganisms

تكوين اللزوجة أو ما يعرف بالمخاطية يظهر في اللبن أو القشدة وغيرها من المنتجات اللبنية نتيجة لفعل بعض الميكروبات ويرجع إلى أن هذه الميكروبات تكون مواد كبسولية تسبب زيادة في لزوجة الناتج بدرجة يمكن معها سحبها في خيوط طويلة، وغالباً ما يلاحظ هذا العيب في اللبن المحفوظ على حرارة ١٣°م ويعتبر عيب واضح وغير مرغوب فيه.

وأهم الميكروبات المسئولة عن ظهور هذا العيب هي ميكروبات القولون ***Escherichia*, *Enterobacter*** وميكروب ***Alcaligenes faecalis* ss.** ***faecalis*** وبعض سلالات من جنس ***Lactococcus*.**

ثالثاً:الميكروبات المنتجة للغازات

Gases forming microorganisms

تكوين الغاز في اللبن ومنتجاته قد يكون أمر مرغوب فيه مثل الجبن السويسرى وبعض أنواع الألبان المتخمرة مثل الكوميس والكيفير ولكن فى معظم الحالات فان إنتاج الغاز في منتجات الألبان يكون غير مرغوب فيه وأغلب الغاز المتكون يكون ثانى أكسيد الكربون ومن أهم البكتريا المكونة للغاز في الألبان ومنتجاتها هي مجموعة بكتريا القولون ***E. coli, E. aerogenes*** حيث تنتج غاز وحموضة وتنمو بدرجة جيدة عند ١٠ – ٣٧°م وهناك بعض سلالات من البكتريا المختلطة لتخمر من جنس ***Lactobacillus*** وكذلك بكتريا حمض البروبيونيك وبعض الخمائر المحللة للاكتوز تنتج كحول وثاني أكسيد الكربون في اللبن والقشدة وتسبب تكوين رغاوى وعند التلوث الشديد من الروث فقد تصل بعض الميكروبات اللاهوائية المتجرثمة من جنس ***Clostridium*** إلى اللبن وتنتج عيوب غازية في الجبن وتسبب ما يسمى بالتخمر العاصف.

رابعاً: الميكروبات المحللة للبروتين Proteolytic microorganisms

تحلل البروتين هو عملية تحويل الكازين أو المركبات المشتقة منة غير

الذائبة إلى مركبات ذائبة في الماء وذلك بفعل بعض أنواع الإنزيمات التي تفرزها بعض الميكروبات

ويوجد عدد كبير من الميكروبات لها القدرة على تحليل الكازين في اللبن ولكن بدرجات متفاوتة فمنها ما يحلل البروتين بدرجة بطيئة مثل بعض سلالات جنس *Lactococcus* وهناك بعض السلالات تحلل البروتين تحليل سريع مع تكوين حموضة قليلة مثل بعض السلالات التابعة لأجناس *Pseudomonas, Bacillus, Flavobacterium* وبعض سلالات بكتريا القولون حيث أن هناك بعض السلالات تحلل كازين بدرجة عالية إلى أن تصل إلى حالة ظهور مركبات ذات رائحة نفاذة مثل الأمينات والأمونيا والإندول مثل بعض أجناس *Clostridium* وهناك بعض السلالات تفرز إنزيم مشابه لإنزيم الرينين وتؤدى إلى تجبن اللبن بدون تكوين حمض وتسبب ما يعرف بالتجبن الحلو ويتبع التجبن تحلل للبروتين والميكروبات المسئولة عن ذلك فهي *En. faecalis, B. subtilis*.

خامساً: الميكروبات المحللة للدهون Lipolytic microorganisms

يوجد العديد من البكتريا والفطريات والخمائر التي لها القدرة على تحليل الدهن عن طريق إنتاجها لإنزيم الليبيز مع انطلاق الأحماض الدهنية والجليسرول ويتميز دهن اللبن باحتوائه على أحماض دهنية قصيرة السلسلة مثل البيوتريك والكابرويك وهذه الأحماض وجودها في منتجات الألبان تسبب روائح غير مقبولة وعملية تحلل الدهن بواسطة إنزيم الليبيز ينتج عنها ما يعرف بالطعم الزنخ ، ومن أهم الميكروبات المحللة للدهن بعض السلالات التابعة لأجناس *Pseudomonas, Brevibacterium, Staphylococcus, Bacillus* كذلك بعض الفطريات التابعة لجنس *Penicillium* والخمائر التابعة لجنس *Candida lipolytica*.

وفيما يلي التقسيم العلمي لبكتريا *Brevibacterium*:

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Suborder: Micrococcineae

Family: Brevibacteriaceae

Genus: *Brevibacterium*

Type species: *Brevibacterium linens*

سادساً: الميكروبات المنتجة لمركبات الطعم والنكهة

Microorganisms produced taste and flavor substances

بعض الميكروبات أثناء نموها في اللبن ومنتجاته تؤدى إلى حدوث تغيرات في الطعم والنكهة واهم هذه التغيرات هي:

١-الطعم المر Bitter taste

يرجع هذا العيب إلى وجود بعض أنواع البكتريا التابعة لجنس ***Enterococcus*** مثل ميكروب ***En. faecalis*** المسبب للطعم المر في اللبن والقشدة والجبن كذلك ***B. subtilis*** يسبب الطعم المر في اللبن المبخر وهناك بعض أنواع من الخمائر تعطى رائحة الخميرة مصحوبة بالطعم المر.

٢-طعم المولت Malt taste

يظهر في اللبن والقشدة الناتجة من المزارع وخاصة في الصيف ووجوده دليل على عدم كفاية عملية التبريد وغالبا ما يطلق علية الطعم المحروق والميكروب المسئول عن ذلك هو ***Lac. lactis* ss. *Lactis* var *maltigenes*** حيث ينمو عند درجة حرارة ٢١°م وعدم تبريد اللبن يساعد هذا الميكروب على أن النمو ويظهر طعم المولت بوضوح في الزبد.

٣-الطعم السمكى Fishy taste

وقد يظهر هذا الطعم نتيجة وجود بعض سلالات من جنس ***Pseudomonas***.

٤-الرائحة المشابهة للبطاطس Potato like odor

تظهر هذه الرائحة أيضاً في القشدة واللبن الخام وترجع إلى الميكروبات التابعة لجنس *Pseudomonas*.

سابعاً: الميكروبات المنتجة للألوان

Color producing microorganisms

تسبب بعض الميكروبات تغيرات في لون اللبن ومنتجاته ولابد من وجود الأكسجين لكي تنمو هذه الميكروبات وتحدث تغيراتها في الألبان ومنتجاتها من حيث ظهور ألوان مختلفة وفى معظم الأحوال يكون التغير في اللون أمرا غير مرغوب ويعتبر عيب من العيوب التي تقلل من جودة المنتجات اللبنية المختلفة ومن أكثر العيوب الشائعة ظهور ألوان على سطح الزبد والجبن حيث تسبب بعض الفطريات من أجناس *Penicillium, Alternaria* إلى ظهور ألوان على سطح الزبد والجبن حيث تحدث بقع صفراء وتظهر أيضاً في الشقوق في طبقة الشمع وهناك بعض من سلالات جنس *Pseudomonas* تنتج صبغات فلورسنتية وبعض البقع السوداء على سطح الزبد وقد تنتج بعض الخمائر بقع وردية أو بنية على السطح أو داخل الجبن وظهور اللون الأحمر يكون ناتجاً عن وجود سلالات من جنس *Serratia* وتظهر أيضاً الصبغات الصفراء نتيجة وجود بعض سلالات من أجناس *Brevibacterium, Pseudomonas*.

الميكروبات الممرضة في اللبن ومنتجاته

Pathogenic microorganisms in milk and its products

تمثل الميكروبات المرضية التي تنتقل عن طريق اللبن ومنتجاته أحد المشاكل الأساسية في كثير من الدول النامية وذلك من الناحية الصحية حيث يعتبر اللبن مصدراً خطيرا لنقل الأمراض خاصة غير المعاملة حرارياً حيث أن اللبن ومنتجاته من الأغذية التي يتناولها جميع الأعمار وخاصة الأطفال وتنتقل الأمراض عموماً إلى اللبن ومنتجاته عن طريق مصدرين أساسين هما الحيوان والإنسان (الحلابين والأشخاص الذين يقومون بتصنيع اللبن ومنتجاته) أى أن المصدر الأول يشمل فقط الأمراض التي تصيب الحيوان بالمزرعة أما المصدر الثاني فيشمل

عادة الأمراض التي تصيب الإنسان وسوف نتكلم عن أهم الأمراض التـي تنتشر من كل مصدر.

أولا: الأمراض الناتجة من ميكروبات تنتقل إلى اللبن عن طريق الحيوان

١- مرض السل Tuberculosis

ويسـببه سـلالات مـن جـنس *Mycobacterium* ويوجـد منـة نوعـان نـوع يصيب الإنسان وآخر يصيب الإنسان والأبقار.

النـوع الأول *My. tuberculosis* فهو يصيب الإنسـان وهـى بكتريـا عصوية موجبة لجرام غير متجرثمة ومقاومة للأحماض.

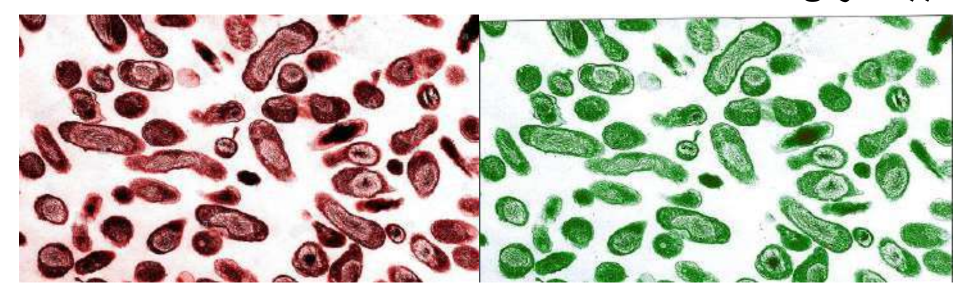
النوع الثاني *My. bovis* ويصيب الإنسان والحيوان وخلاياه تشبه النـوع الأول وهى أقصر في الطول منة وبسترة اللبن تقضى على كلا النوعين.

وأهمية ميكروب السل في إصابة الإنسـان تتوقف علـى مدى انتشـار المرض في قطيع الحيوانات وقد أمكن في حالات متعددة إثبات وجود البكتريا المسببة لمرض السل فـي اللـبن الخـام الواصـل مـن المـزارع إذا أنتجـت مـن حيوانـات مصابة وتختلـف أعراض المرض تبعاً للمكان المصاب في الإنسان ففي حالة تدرن الرئتين يحدث الألم في الصدر مع رشح ، وفى حالة تدرن الأمعاء تحدث اضطرابات معوية مثل الإسهال والإمساك وينتهي بانسداد الأمعاء، وفى حالة تدرن الكلى يظهر البول الـدموي، وفـى حالة إصابة المخ والدرن فإن ذلك يؤدى إلى حدوث تشنجات عصبية.

٢- مرض (حمى) Q fever

ويسببها ميكروب *Coxiella burnetii* وهو ميكروب عصوي قصير أو كروي – سالب لجرام يقاوم البسترة العادية ويمكنه البقاء حي في اللبن المعقم لمدة سنة أو أكثر وتصل إلى اللبن عن طريق الحيوانات المصابة وتسمى حمى كيو "Q" Query fever ، ومن أعراض المرض صداع شديد والقشعريرة المفاجئة وارتفاع في الحرارة وعرق غزير وضعف عام وتصلب بالعنق وألام بالعضلات وألام في الحنجرة والصدر وفترة الحضانة لها ٢٠ يوم وللقضاء على الميكروب يجب

عزل الحيوانات المريضة وإعدام لبنها ثم معاملة اللبن حرارياً للقضاء على الميكروب المسبب للمرض.



شكل (٦-٤): ميكروب *Coxiella burnetii* المسبب لمرض Query fever

٣-الحمى المتقطعة *Brucella*

الجنس المسبب لهذا المرض هو *Brucella* وترجع خطورته في أنه يتحمل الظروف القاسية لفترات طويلة مثل الجفاف والحموضة المنخفضة ودرجات الحرارة المنخفضة وعزل من كثير من المنتجات اللبنية مثل الجبن والزبد واللبن الخض والأيس كريم ويسب مرض الحمى المتقطعة.

والسلالات *Br. abortus, Br. suis* تسبب الحمى المتقطعة وتصيب الإنسان كما أن ميكروب *Br. melitensis* ينتقل إلى الإنسان عن طريق اللبن ويسبب مرض الحمى المالطية وفترة حضانة المرض ١ – ٣ أسابيع ، وأهم أعراض هذا المرض ارتفاع في الحرارة وقشعريرة وعرق وضعف عام وألام في الجسم وفقد في الوزن، ويمكن القضاء على الميكروبات المسببة لهذا المرض في اللبن بإجراء عملية البسترة بصورة جيدة.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Alphaproteobacteria

Order:Rhizobiales

Family:Brucellaceae

Genus:*Brucella*

Species: *Brucella* spp.

٤-الأمراض المعوية Enteric diseases

ويسببها جنس *Campylobacter* حيث تسبب أنواع هذا الجنس حالات مرضية معوية حادة وأكثرها سببا لهذه الحالات هي *C. jejuni* وتصل إلى اللبن عن طريق التلوث بروث الماشية وأمكن عزل هذا الميكروب من اللبن الخام، والإصابة بهذا الميكروب يسبب إسهال وقيىء ومغص لفترة تبلغ أسبوع، والمعاملة الحرارية تقضى على هذا الميكروب.

٥-مرض التهاب الضرع Udder inflammation

يظهر هذا المرض على الحيوان بوجود التهابات على ضرع الحيوان ويؤدى إلى قلة إنتاجها من اللبن ويسبب هذا المرض ميكروبات عديدة منها *Str. agalactia* وبعض أنواع من *E. coli* والميكروب الأول يصل إلى اللبن عن طريق الماشية المصابة بالتهاب الضرع ويسبب للإنسان حالات مرضية كثيرة مثل الالتهاب السحائي والتهاب الكلى والالتهاب الرئوي والتهاب المفاصل والعيون، والبسترة الجيدة يمكن بها التخلص من هذا الميكروب.

٦- الحمى القلاعية

يصيب هذا المرض نسبة كبيرة من قطعان الحيوانات وخاصة الأبقار ومنها ينتقل إلى الإنسان، ومن أعراض هذا المرض على الحيوان ظهور بثرات على القدم وبين الحوافر وفى فم الحيوان ويسبب المرض فيروس الحمى القلاعية الذى يوجد في السائل الموجود بداخل هذه البثرات حيث يمكن أن ينتقل إلى اللبن واللعاب.

يصاحب إصابة الحيوان بهذا المرض قلة إنتاجية اللبن، واللبن الناتج يكون غير طبيعي فى مظهره وطعمه ونكهته، وينتقل المرض إلى الإنسان عن طريق الملامسة للجروح وكذلك عند تناول اللبن المحتوى على هذا العامل المسبب للمرض.

٧- التفحم الدموى Bloody smut

يصيب هذا المرض الحيوانات وخاصة الأبقار الحلوب ومنها ينتقل إلى الإنسان عن طريق اللبن، ومرض التفحم الدموى يسببه ميكروب *Bacillus anthracis*

حيث يؤدى إلى نفوق الماشية وطفح دموى وعندما ينتقل إلى الإنسان فإنه يؤدى إلى وجود بثرات دموية فى الوجه.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Firmicutes

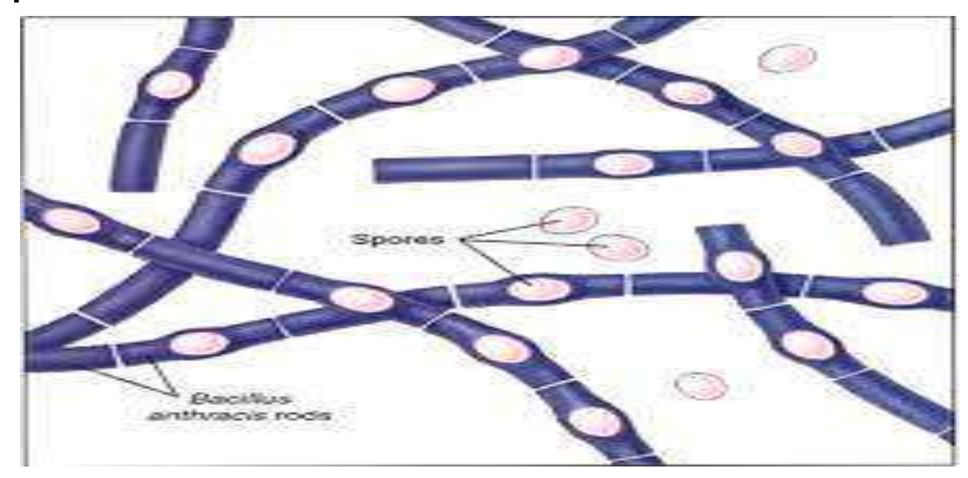
Class:Bacilli

Order:Bacillales

Family:Bacillaceae

Genus:*Bacillus*

Species:*Bacillus anthracis*



شكل (٦-٥) : ميكروب *Bacillus anthracis*

ثانياً: الأمراض الناتجة من ميكروبات تنتقل إلى اللبن عن طريق الإنسان

هذه الميكروبات تسبب أمراض معوية وتنتقل إلى اللبن عن طريق الشخص المصاب أو براز الشخص المصاب أو عن طريق ملامسة الشخص لمواد ملوثة أو شخص مصاب آخر ثم ينقلها إلى اللبن وأهم هذه الأمراض:

١-الدوسنتاريا البكتيرية Bacterial dysenteriae

الميكروبات المسببة لهذا المرض تتبع جنس *Shigella* وأهم الميكروبات المسئولة عن هذا المرض هي *Sh. dysenteriae, Sh. boydii, Sh.*

flexnari ويسمى المرض الناتج من هذه الميكروبات بالدوسنتاريا البكتيرية وفترة حضانة هذا المرض هي ١ – ٧ أيام وينتج عنه إسهال مصاحب بدم في البراز مع ارتفاع في درجات حرارة الجسم وأمكن عزل هذا الميكروب من اللبن والزبادي والجبن الأبيض ويمكن القضاء على هذا الميكروب عن طريق الحفظ على درجات حرارة منخفضة والمعاملة الحرارية.

٢– التيفود والباراتيفود Typhoid and paratyphoid fever

الميكروبات المسببة لهذا المرض تتبع جنس *Salmonella* مثل سلالات *Sal. typhi , Sal. paratyphi* وهذه الميكروبات تسبب أمراض التيفود والباراتيفود للإنسان والحيوان وحمى التيفود من أكثر الأمراض انتشارا عن طريق اللبن.

هذه البكتريا تظل عادة مسببة العدوى للمصابين لمدة سنين بعد شفائهم ويعتبر هؤلاء الأشخاص مصدرا في غاية الخطورة في نشر المرض وذلك لعدم ظهور أعراض المرض عليهم ، أما حمى البارا تيفود فهى أقل انتشارا من التيفود وتصل إلى اللبن عن طريق الإنسان المريض، كما أن هناك نوع خطير يتبع هذا الجنس وهو *Sal. cholcraesuis* والذي يسبب أعراض تشبه مرض الكوليرا وفترة حضانة الميكروب من ٨ – ٧٢ ساعة ويصاحبها أعراض مشابهة للدوسنتاريا حيث يحدث الإسهال الشديد مع ارتفاع في درجات حرارة الجسم وغثيان وصداع شديد وتم عزل هذا الميكروب من اللبن الخام واللبن المجفف وبصفة عامة فإن حفظ اللبن على درجات حرارة منخفضة مع مراعاة الشروط الصحية في الإنتاج يؤدى إلى خفض جميع الاحتمالات للتلوث بالميكروب.

٣ – الحمى القرمزية Scarlet fever

والميكروب المسبب لهذا المرض هو *Lactococcus pyogenes* حيث يسبب الآلام في الحنجرة والتهاب في الزور واللوزتين ويسبب أيضاً العديد من أمراض الجهاز التنفسي للإنسان والحيوان والمرض ينتشر عن طريق اللبن حيث يصاب

الضرع من حاملي المرض ويسبب التهابه، وللقضاء على هذا الميكروب يجب مراعاة الشروط الصحية مع حفظ اللبن على درجات حرارة منخفضة ومعاملة اللبن على درجات حرارة أعلى من ٦٠°م.

٤ – الكوليرا Cholera

الميكروبات المسببة لهذا المرض تتبع جنس ***Vibrio*** ووجد أن أغلب سلالات هذا الجنس تسبب حدوث إسهال بدرجات متفاوتة ولكن أخطرها هو ***V. cholerae*** حيث يتضمن العديد من السلالات التي تسبب حالات الكوليرا بأعراضها الشديدة والتي قد تسبب الوفاة.

٥-الالتهاب السحائي Meningitis

السلالات المسببة لهذا المرض تتبع جنس ***Listeria*** وتصيب الإنسان مسببة له الالتهاب السحائي للمخ والحبل الشوكى كما تصيب الحيوان مسببة له التهاب الضرع والإجهاض ويصل إلى اللبن عن طريق الإنسان والحيوان المريض والسلالة المسئولة عن هذا المرض هى ***L. monocytogenes*** .

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Firmicutes

Class:Bacilli

Order:Bacillales

Family:Listeriaceae

Genus:*Listeria*

Species:*Listeria monocytogenes*

ثالثا: الأمراض الناتجة عن سموم تفرزها الميكروبات في اللبن أو منتجاته

تحدث هذه الحالات المرضية بسبب تناول ألبان ومنتجاتها تحتوى على سموم بكتيرية سواء كانت هذه البكتريا ما زالت حية أو نشطة ومستمرة في النمو

وغير موجودة فى الغذاء ولكن توجد سمومها وتسبب ميكروبات هذه المجموعة التسمم الغذائي وتتضمن هذه المجموعة سموم أنواع البكتريا التالية:

1- *Bacillus cereus*

توجد سلالات من هذا الميكروب تنتج سموم ممرضة منها ما يسبب القيىء والأخر يسبب الإسهال ويمكن القضاء على الخلايا الخضرية لهذا الميكروب بالمعاملة الحرارية ولكن جراثيم هذا الميكروب تقاوم المعاملة الحرارية.

2- *Clostridium botulinum*

وينتج عن هذا الميكروب سموم مختلفة تؤثر على الجهاز العصبي وتسبب الوفاة ويعرف بميكروب التسمم الغذائي ومنها سلالات تحلل البروتين ومنها ما لا يحلل البروتين وينتج سموم وأمكن عزل هذا الميكروب من بعض أنواع الجبن المطبوخ.

توجد سلالات أخرى من جنس *Clostridium* تنمو في منتجات الألبان وتكون جراثيم مقاومة للحرارة ولكن الخلايا الخضرية يتم القضاء عليها بالبسترة العادية للبن وتنتج أنواع عديدة من السموم وبكمية كافيه لإحداث الحالة المرضية.

3- *Corynebacterium diphtheriae*

يفرز هذا الميكروب سموم خارجية وينتقل عن طريق الاتصال المباشر للمريض بالألبان ومنتجاتها ويسبب المرض المعروف بالدفتيريا، ومن أعراضه أنه يكون غشاء على اللوز والبلعوم والحنجرة ويفرز سموم تسبب ارتفاع في درجات الحرارة وهبوط في القلب وشلل في بعض أعضاء الجسم ويظل المريض حامل للمرض بعد الشفاء عدة أسابيع وينتقل عن طريق اللبن الخام أو الأيس كريم.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Family:Corynebacteriaceae

Genus:*Corynebacterium*

Species:*Corynebacterium diphtheriae*

4-*Staphylococcus aureus*

ينتج هذا الميكروب العديد من السموم التي تسبب القيىء والمغص والغثيان والإسهال ودرجة الحرارة المثلي لنمو هذا الميكروب هي ٣٥ – ٣٧°م وينمو في نطاق واسع من درجات ال pH، والسموم الناتجة من هذا الميكروب تقاوم الحرارة وهو منتشر في الدول النامية ، وحفظ الأغذية على درجات حرارة منخفضة تقلل من نمو هذا الميكروب ويوجد من هذا الميكروب أنواع عديدة منها ما يسبب حالات تسمم شديدة.

5-*Escherichia coli*

توجد بعض سلالات من هذا النوع ممرضة للقناة الهضمية حيث تفرز سموم مقاومة أو غير مقاومة للحرارة وهذه السموم تسبب إسهال شديد قد يكون مصحوباً أو غير مصحوب بارتفاع الحرارة مع مغص وصداع وأحياناً يكون البراز مصحوباً بالدم ويمكن القضاء على هذا الميكروب بمراعاة الشروط الصحية والنظافة والحفظ على درجات حرارة منخفضة والمعاملة الحرارية الجيدة للألبان.

ميكروبيولوجيا الألبان المتخمرة

Microbiology of fermented milk

تعتبر الألبان المتخمرة من أقدم المنتجات اللبنية التي عرفها الإنسان منذ العصور القديمة وينتشر في جميع أنحاء العالم أنواع عديدة من الألبان المتخمرة تختلف تبعاً لنوع اللبن ونوع البكتريا المستخدمة في الصناعة والتى تتغير صفاتها من مكان إلى أخر كما أن لطريقة الصناعة أثر واضح على صفات وخواص الناتج ولقد كان البدو هم أول من صنع الألبان المتخمرة من لبن الأبقار والأغنام والماعز والجمال ولقد اكتشف الإنسان منذ سنين عديدة أنواع البكتريا التي تستخدم للحصول على مثل هذه الألبان المتخمرة وبتطور العلوم اكتشف الإنسان أن نواتج نمو هذه البكتريا ليس فقط قاصرا على إعطاء صفات مميزة للمنتج بل أنها قادرة على إيقاف نمو وربما قتل البكتريا المسببة للفساد وأيضاً البكتريا المرضية.

ولقد تنبه العلماء إلى أهمية استهلاك الألبان المتخمرة على الصحة العامة للإنسان هذا وتجدر الإشارة هنا إلى أن المصريين القدماء أول من قدر الأهمية الصحية للألبان المتخمرة وتدل أثارهم على إنهم استخدموها في علاج بعض الأمراض (أغذية علاجية).

الأهمية الصحية للألبان المتخمرة

Healthy importance of fermented milk

امتلكت قبائل الرعي في أسيا وجبال القوقاز في العصور القديمة أعدادا هائلة من قطعان الماشية التي أنتجت كميات كبيرة جدا من اللبن كانت أكبر من قدرتهم على استهلاكه طازجاً، وعن طريق التجارب استطاعوا التوصل إلى طريقة صناعة اللبن الزبادي ذلك الغذاء الذي يمنح الصحة والقوة وطول العمر ، حتى أن "جنكيز خان" قائد المغول أمر به كغذاء يومي لجيوشه التي استطاعت غزو كثير من الممالك والأمم ، مما جعل بعض المؤرخين يرجعون هذه الانتصارات لهذا الزبادي العجيب ، ومنهم عرف العالم كله هذا الغذاء الصحي الملئ بالأسرار المفيدة.

ولقد وجد أن الألبان المتخمرة بما تحتويه من كائنات دقيقة حية يمكن أن تدعم نمو ونشاط الكائنات الدقيقة ذات التأثيرات الصحية المفيدة والمعزولة من مصدر أدمى ويطلق عليها **Probiotics** وتنتمى عادة إلى أحد جنسين وهما مجموعة البيفيدو ومجموعة اللاكتوباسيلاى ومن أهم الأنواع المستخدمة لهذا الغرض ما يلي:

Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium Infantis, Lactobacillus reuteri, Bifidobacterium bifidum.

بكتريا حمض اللاكتيك Lactic acid bacteria

تضم هذه المجموعة من البكتريا الأجناس التالية:

١-جنس *Lactobacillus*

توجد هذه البكتريا منتشرة في الأعلاف وأسطح النباتات وفى السيلاج والأنسجة العضوية وفى اللعاب والقناة الهضمية للإنسان والحيوان وفى اللبن ومنتجاته وسلالات هذا الجنس هامة جدا في الصناعات اللبنية وخاصة في الألبان المتخمرة (الزبادي) وتلعب دورا هاماً في تسوية الجبن وتستخدم أخيرا في الإنتاج التجاري لحامض اللاكتيك ومن صفاتها.

١- عصوية غير متجرثمة موجبة لجرام وغير متحركة.

٢- توجد مفردة أو في أزواج أو في سلاسل.

٣- تخمر السكريات وتنتج كميات كبيرة من نواتج التخمر وهذه النواتج تختلف من نوع لأخر حيث تقسم إلى:

أ – متجانسة التخمر وتشمل الأنواع التي تخمر السكريات مكونة حامض اللاكتيك كناتج رئيسى لهذا لتخمر.

ب – مختلطة التخمر وتشمل الأنواع التي تخمر السكريات إلى نواتج مختلفة من بينها حمض اللاكتيك – حمض الخليك – ثاني أكسيد الكربون – كحول الايثانول كنواتج رئيسية.

التقسيم الحديث لبكتريا حمض اللاكتيك

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Firmicutes

Class:Bacilli

Order:Lactobacillales

Families

Family:Acetoanaerobium

Genus:*Acetoanaerobium*

Family:Aerococcaceae

Genera

Abiotrophia,Aerococcus,Dolosicoccus,Eremococcus

***Facklamia,Globicatella,Ignavigranum*.**

Family:Carnobacteriaceae

Genera

Agitococcus, Alkalibacter ,Alkalibacterium ,Allofustis,

Alloiococcus,Atopococcus,Atopostipes,Carnobacterium ,

Desemzia,Dolosigranulum,Granulicatella,Isobaculum ,

***Lactosphaera ,Marinilactibacillus, Trichococcus*.**

Family:Enterococcaceae

Genera

Bavariicoccus,Catellicoccus,Enterococcus,Melissococcus Pilibacter,Tetragenococcus.

Family:Lactobacillaceae

Genera

Alloiococcus,Lactobacillus,Paralactobacillus,Pediococcus.

Family:Leuconostocaceae

Genera

Fructobacillus,Leuconostoc,Oenococcus,Weissella.

Family:Streptococcaceae

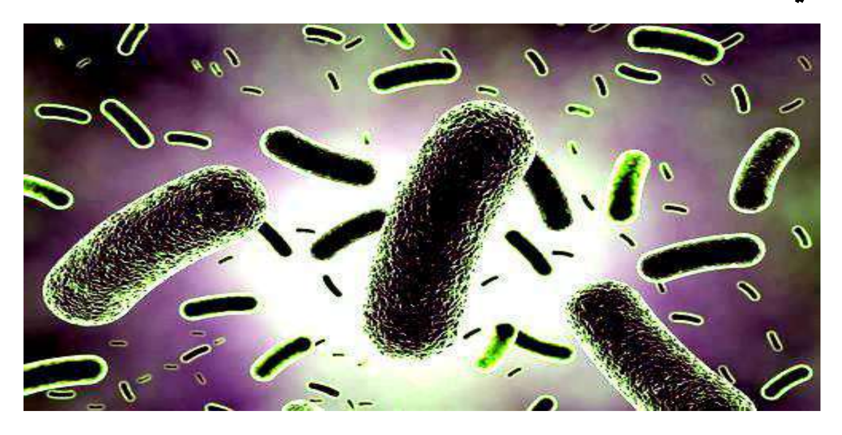
Genera

Lactococcus,Lactovum,Streptococcus.

كما يمكن تقسيم سلالات جنس *Lactobacillus* إلى مجاميع طبقاً لنسبة الحموضة التي تنتجها في اللبن:

- **بكتريا لا تنتج حموضة مثل *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* حيث أن هذه السلالة تستخدم كبادىء في صناعة الجبن الجاف.**
- **بكتريا تنتج حموضة منخفضة أقل من ١% مثل *L. fermentum* , *L. brevis* وهى سلالات مختلطة التخمر وتسبب الأخيرة بعض العيوب في جبن الإمنتال السويسري ولكن تعتبر هذه السلالات هامة في صناعة الجبن الجاف.**
- **بكتريا تنتج حموضة متوسطة من ١ إلى ١,٨% مثل *L.casei,* *L. plantarum,* *L. delbrueckii* subsp *lactis,* وهى سلالات مسئولة عن تسوية الجبن حيث ان لها مقدرة على تحليل البروتين لذلك تستخدم كبادىء لصناعة الجبن وخاصة الجبن الجاف.**
- **بكتريا تنتج حموضة مرتفعة أعلى من ٢% مثل *L.acidophilus,* *L. helveticus* *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus,* حيث تستخدم**

هذه السلالات كبادىء في صناعة الزبادي وبعض الألبان مثل لبن الأسيدوفيلس وهذه الأنواع تساعد على خفض نسبة الكوليسترول في الدم ومنع حدوث الإمساك لذلك تستخدم في تحضير المستحضرات الطبية في صورة مجففة لتأثيرها النافع في الأمعاء.



شكل (٦-٦): بكتريا *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

٢-جنس *Bifidobacterium*

من صفات هذا الجنس ما يلي:

١- بكتريا عصوية ذات أشكال مختلفة.

٢- غير متجرثمة وغير متحركة.

٣- مختلطة التخمر ولكن لا تنتج غاز.

٤- لاهوائية.

٥- درجة الحرارة المثلي لنموها ٣٦ – ٣٨°م

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

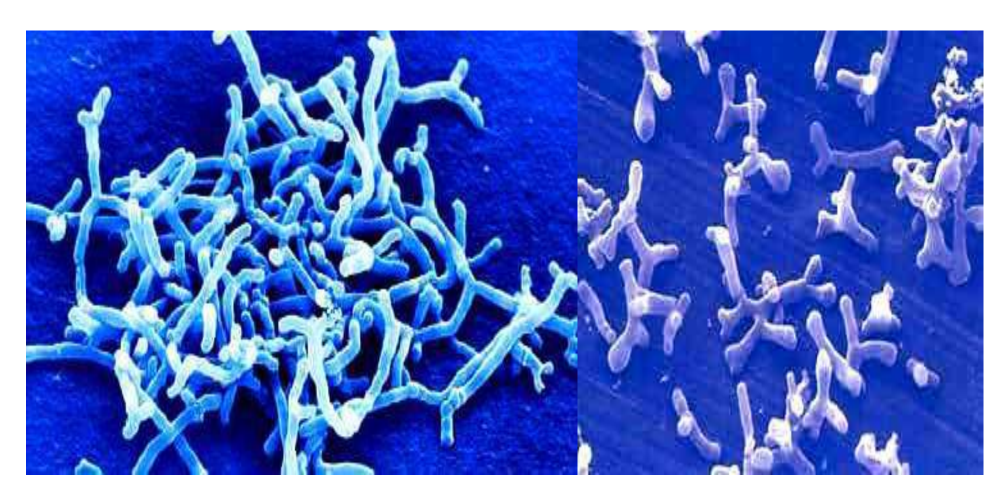
Class:Actinobacteria

Order:Bifidobacteriales

Family:Bifidobacteriaceae

Genus:*Bifidobacterium*

وتستخدم سلالات هذا الجنس كبادىء في صناعة بعض الألبان المتخمرة ولها صفات حيوية هامة داخل جسم الإنسان ومن أهم أنواعها *Bifido. bifidum,* *Bifido. infantis*.



شكل (٦-٧): بكتريا *Bifidobacterium* sp.

٣-جنس *Leuconostoc*

من صفات هذا الجنس ما يلي:

١-بكتريا كروية غير متجرثمة.

٢- غير متحركة.

٣-تتميز أنواع هذا الجنس بتمثيل السترات في البيئة وتنتج مركبات مسئولة عن نكهة كثير من منتجات الألبان التي تدخل في صناعتها هذه الأنواع من البكتريا.

٤-تتميز هذه الميكروبات بتخميرها للسكريات ومنتجة ثاني أكسيد الكربون وحامض لاكتيك وإيثانول.

٥-درجة الحرارة المثلي لنمو أنواع هذا الجنس هي ٢٠ -٣٠°م.

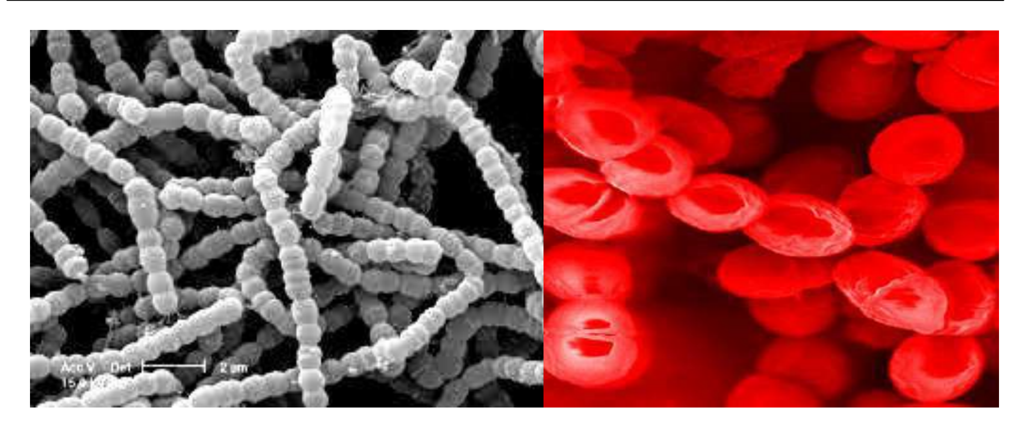
يتضمن هذا الجنس تسعة أنواع من أهم تلك الأنواع والتي تستخدم في مجال الألبان

Leuconostoc lactis

Leuconostoc mesenteroides subsp *mesenteroides*

Leuconostoc mesenteroides subsp. *dextranicum*

Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris*



شكل (٦-٨) : بكتريا .*Leuconostoc* sp

٤-جنس *Lactococcus*

من صفات هذا الجنس ما يلي:

١- بكتريا كروية أو بيضاوية توجد في أزواج أو سلاسل قصيرة.

٢- غير متجرثمة وموجبة لصبغة جرام وغير متحركة وهوائية اختيارية.

٣- تنتج حامض اللاكتيك عند تخميرها للسكريات ولا تكون غاز وسالبة للكتاليز.

٤- الحرارة المثلي لنموها ٣٥°م.

تستخدم أنواع هذا الجنس في العديد من بادئات تصنيع الألبان المتخمرة والجبن عند نموها في اللبن فإنها تخمر اللاكتوز وتنتج حامض اللاكتيك وهى حساسة للمضادات الحيوية والمطهرات وبعض سلالات هذا الجنس ينتج مضاد حيوي يطلق علية النيسين Nisin يثبط نمو العديد من أنواع الميكروبات المرضية والمتجرثمة.

ومن أهم أنواع هذا الجنس

1- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

وهى سلالات كروية أو بيضاوية الشكل وسريعة الإنتاج للحموضة على درجة الحرارة المعتدلة ٣٠°م وتستخدم في صناعة الجبن الجافة مثل التشدر والراس وتعطى خثرة صلبة بدون غاز أو انفصال شرش حيث انها تكون من ٠,٨ – ١,٢% حمض لاكتيك وتنتج المضادات الحيوية مثل النياسين Nisin الذي يوقف نشاط كثير من الميكروبات المرضية حيث يستخدم هذا المضاد الحيوي في عمليات حفظ الجبن وزيادة مقاومته للانتفاخ الغازي المتأخر.

2- ***Lactococcus lactis*** **subsp.** ***diacetylactis***

تتميز هذه السلالة بتخميرها لحمض الستريك منتجة حمض لاكتيك وخليك وثاني أكسيد الكربون ومركبات الكربون الرباعية التي تعطى النكهة والطعم المرغوب للمنتجات اللبنية كذلك حمض الخليك الناتج يعتبر مثبط لنشاط بعض سلالات بكتريا القولون أما درجة الحرارة المثلي لنموها فتبلغ ٣٠°م.

3- ***Lactococcus lactis*** **subsp.** ***cremoris***

تشبه هذه السلالة السلالة الأولى في كثير من الصفات حيث توجد منها بعض الأنواع التي تنتج مضاد حيوي يسمى ديبلوكوكيسين Diplococcin تثبط نمو السلالة الأولى كما يوجد تحت هذا الجنس بعض السلالات التي تسبب بعض العيوب في الألبان مثل ظهور الحالة المخاطية أو الخيطية في الألبان Rapinessعند تخمره كذلك ظهور طعم المولت Molt flavour.

أنواع الألبان المتخمرة Types of fermented milk

الألبان المتخمرة هي الألبان التي فيها يصنع اللبن بتخمير الميكروبات المختلفة مثل البكتريا فقط أو البكتريا + الخميرة وينشأ عنها التجبن الحمضى (حمض اللاكتيك) أو الحمضى + كحول وغاز (ثنى أكسيد الكربون) وكل نوع من أنواع الألبان المتخمرة يتميز بوجود مركبات طعم معينة وقوام وتركيب خاص به، وفيما يلي أهم أنواع الألبان المتخمرة المصرية والمستوردة.

أولاً: الأنواع المصرية

١-لبن الزبادى

يصنع اللبن الزبادى بنفس الطريقة التي يصنع بها اليوجهورت الأجنبي حيث يستخدم بادئ مكون من *Str. thermophilus, L. delbrueckii* ss. *bulgaricus* وقد تشترك مع هذه السلالة سلالات أخرى تعطى اللبن الزبادى المصرى الطعم المميز له وهى سلالات من جنس *Micrococcus* وبعض أنواع من الخمائر.

٢- اللبن الرايب

تنتشر صناعة اللبن الرايب في الريف المصري وهو عبارة عن لبن متخمر طبيعيا عن طريق ترك اللبن فترة بعد حلابته في الأوانى الفخارية والتي تعرف باسم الشوالى أو المتارد على درجة حرارة الغرفة حتى يتجبن اللبن في خلال ١ - ٣ أيام تبعا لدرجة حرارة الجو ثم تنزع طبقة القشدة المتكونة والمتبقي يعرف باسم اللبن الرايب، ومن الدراسات التي أجريت على اللبن الرايب وجد أنه يحتوى على سلالات من جنس ***Lactococcus*** وجنس ***Leuconostoc*** كذلك على بعض من سلالات جنس ***Lactobacillus*** ولكن بكميات قليلة نظرا لنقص وجود سلالات هذا الجنس في اللبن الخام.

٣- اللبن الخض الحمضى

ينتشر هذا النوع في صعيد مصر ويتميز بارتفاع حموضته ويختلف مظهرة تبعا لاختلاف فصول السنة والمجموعة البكتيرية التي قد تتواجد في اللبن الخض الحمضى تتكون من سلالات من أجناس ***Lactococcus, Leuconostoc*** وخاصة في فصل الشتاء وفى فصل الصيف يضاف نسبة من الملح إلى اللبن الخض وتتواجد بعض سلالات من أجناس ***Lactobacillus***.

٤- الكشك

ينتشر هذا النوع أيضا في صعيد مصر ويصنع بغلي حبوب القمح ثم تغسل بالماء البارد للتخلص من المواد الجيلاتينية ثم تنشر وتترك في الشمس حتى تجف ثم تزال القشرة الخارجية وتطحن للحصول على مجروش يخلط مع لبن الزير بنسبة ١ - ٢ ثم يترك ليتخمر لمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة ثم يقطع بعد ذلك إلى قطع صغيرة ويترك في الهواء ليجف.

ومن أهم المجاميع البكتيرية التي تتواجد في الكشك مجموعة بكتريا من جنس ***Leuconostoc*** والتي تتواجد بلبن الزير وتنمو وتتكاثر وتسبب زيادة الحموضة كذلك هناك بعض أنواع من الخمائر والتي تنمو وتتكاثر وتسبب ارتفاع للحموضة وكذلك توجد بعض سلالات من جنس ***Bacillus*** وهى بكتريا متجرثمة هوائية تقوم بتحليل نشا حبوب القمح بفعل إنزيم الأميليز وتسبب في انفراد كمية من

السكريات حيث تقوم الخمائر وبعض أفراد من جنس ***Lactobacillus*** بتخميرها وإنتاج الحموضة.

ثانياً: الأنواع المستوردة

١-لبن الأسيدوفيلس

ينتشر هذا النوع في الولايات المتحدة الأمريكية ويصنع من اللبن الكامل أو الفرز أو الشرش وتستخدم مزارع نقية من *L. acidophilus*.

ويصنع عن طريق تسخين اللبن إلى ٩٠°م ثم يبرد وتضاف المزارع النقية من *L. acidophilus* بنسبة ٢٪ ويحضن على ٣٦°م لمدة ٤ ساعات والحموضة المتكونة تتراوح ما بين ٠,٧ - ٠,٨٪ والناتج يتميز بقوام متماسك حيث يحفظ في الثلاجة بعد ذلك لعدم ارتفاع الحموضة.

٢-الداهى

يصنع هذا النوع في الهند وأفغانستان وجنوب شرق أسيا ويصنع من اللبن الجاموسى والبقرى أو خليط منهما حيث يغلى اللبن لمدة عشرة دقائق ثم يبرد ويضاف إليه خميرة تحتوى على سلالات من أجناس *Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc* حيث بإنهاء عملية التخمر يصبح الناتج ذو قوام كثيف وطعم حمضى خفيف وذو نكهة ورائحة مرغوبة بفعل تخمير السترات عن طريق السلالات التابعة لجنس *Leuconostoc*.

٣-اللبن البلغارى

يصنع من اللبن البلغارى بتسخين اللبن إلى ٨٥°م لمدة ٣٠ دقيقة ثم يبرد إلى ٢١°م ويلقح بنسبة ١ - ١,٥٪ ببادئ ويحتوى على سلالات من *L. delbrueckii* ss. *bulgaricus, Lac. lactis* ss. *lactis* حتى يعطى ناتج ذو حموضة حوالى ١٪ وكذلك قوام لزج.

٤-اللبن الخض المتخمر

يعتبر من الألبان المتخمرة واسعة الانتشار في أمريكا والذي يتميز باحتوائه على حبيبات من الزبد ويستخدم بادئ مكون من سلالات من جنس *Lactococcus* وجنس *Leuconostoc* ولكن يعاب على اللبن الناتج أنه

يحدث به دائماً انفصال للشرش مما يدفع بعض الصناع إلى إضافة بعض المواد المثبتة قبل إضافة البادئ.

٥-اليوجهورت

وهو من أشهر الألبان المتخمرة في العالم ويشبه إلى حد كبير الزبادي في مصر وتمر صناعة اليوجهورت بعدة مراحل أهمها:

أ-تعديل تركيب اللبن وتدعيمه ببعض الإضافات وضبط معدل المواد الصلبة للوصول إلى منتج جيد من ناحية القوم.

ب-بسترة اللبن على ٧٢°م لمدة ١٥ ثانية لقتل البكتريا المرضية.

ج-إضافة البادئ ***L. delbrueckii* ss*. bulgaricus*, *Str. thermophilus*** بعد تنشيطه ثم يترك اللبن بعد إضافة البادئ في أكواب لإتمام التخمر.

د-تبريد المنتج للتحكم في كمية الحموضة به وذلك لتقليل نشاط الميكروب.

والحموضة المتكونة عادة في اليوجهورت تكون حوالي ٠,٩ - ١٪ مقدرة كحمض لاكتيك والأعداد الميكروبية قد تصل إلى ٢ X ١٠ ٩ خلية/ سم٣ وتعتبر خطوة إضافة البادئ لإتمام عملية التخمير هي أهم خطوة في تصنيع اليوجهورت حيث تتحكم ميكروبات البادئ في نوعية المنتج النهائي.

واليوجهورت لما له من حموضة عالية إلا أنه منتج غذائي أمن صحياً لعدم مقدرة الميكروبات المرضية من النمو فيه تحت ظروف الحموضة العالية إلا أن الخمائر والفطريات هى أكثر الميكروبات مقاومة لحموضة اليوجهورت وتستطيع النمو بغزارة مسببة بعض المشاكل.

٦-القشدة المتخمرة

تتميز القشدة المتخمرة بطعم ونكهة حمضية خفيفة وهى تتميز أيضاً بقوام سميك ناعم لا يحتوى على أى شرش منفصل وتستخدم السلالات التابعة لجنس ***Lactococcus*** وجنس ***Leuconostoc*** في إنتاج القشدة المتخمرة.

٧-الكيفير

وهو من أقدم الألبان المتخمرة ذات التخمر الحمضى الكحولي الغازي ويصنع من لبن الأغنام والماعز والأبقار ومن الأشياء المميزة لهذا النوع من الألبان المتخمرة

هي حبوب الكيفير وهى غير قابلة للذوبان في الماء وتعتبر الخميرة المسئولة عن تخمير هذا المنتج ويحتوى على سلالات من *Lac. lactis* ss *lactis*, *L. delbrueckii* ss *bulgaricus* كما يحتوى على بعض سلالات من جنس *Micrococcus* وبعض أنواع من الخمائر خاصة من النوع *Saccharomyces* ويحتوى الناتج على ٠,٧ – ١٪ حمض وحوالي ١٪ كحول بالإضافة إلى كمية وفيرة من غاز ثاني أكسيد الكربون، ويلاحظ أن حبوب الكيفير المخزنة لمدة طويلة يجب تنشيطها قبل الاستخدام بغمرها في ماء دافىء لمدة ٣ – ٤ ساعات ثم في محلول بيكربونات الصوديوم ١٪ لمدة ساعتين أخرى تصبح بعدها ذات لون أبيض وحجم أكبر وصالحة للاستخدام.

ويصنع الكيفير عن طريق تسخين اللبن إلى ٨٥°م ويحفظ على هذه الدرجة لمدة نصف ساعة ثم يبرد إلى ٢٥°م ويترك فترة ثم تضاف إليه حبوب الكيفير على هذه الدرجة ويترك عليها حوالي ١٢ ساعة حتى يتكون الطعم الكحولي وتظهر الغازات به ثم تفصل بعد ذلك حبوب الكيفير من خلال شبكة يصفى من خلالها الكيفير ثم تغسل وتجفف وتحفظ لحين استخدامها مرة أخرى ثم يبرد الناتج ويصبح صالح للاستهلاك وفى بعض الأحيان قد يضاف السكروز بنسبة ١ – ٢٪ لتنشيط الخميرة، ويجب العناية بحبوب الكيفير عن طريق حفظها في أكياس من الورق أو الألمونيوم في مكان بارد حيث تظل صالحة لمدة من ١٢ – ١٨ شهر.

٨-الكوميس

يصنع من لبن أنثى الفرس في روسيا ويحتوى على الكحول وحمض اللاكتيك ويتميز الكوميس بلونه الأبيض والقوام السائل مثل اللبن ولا يحتوى على أى أجزاء متخثرة أو تكتلات لبنية وهذا يرجع إلى طبيعة بروتين اللبن المستخدم فى الصناعة التي تختلف عن طبيعة بروتين لبن الأبقار حيث أنه يعطى خثرة غير محسوسة.

وتتم عملية التخمر بفعل سلالات من *L. delbrueckii* ss. *bulgaricus* وخميرة من نوع *Torula* ويتميز الناتج بطعمه الحمضى بالإضافة إلى تأثير الكحول وثاني أكسيد الكربون على الطعم وهو يكون رغاوى على السطح

عند نقلة من وعاء إلى أخر، ونظرا للزيادة الكبيرة على لبن الكوميس فقد تمت محاولة إنتاجه من لبن الأبقار ولكن اختلف قوام اللبن نظرا لأن طبيعة بروتين لبن الأبقار مختلفة عن لبن الفرس.

ويصنع لبن الكوميس من بادئ لبن فرز مبستر ويضاف إليه الخميرة من نوع ***Torula*** وتحضن على ٣٠°م لمدة ١٥ ساعة كما يتم إعداد بكتريا حمض اللاكتيك في كمية من نفس هذا اللبن وتحضن على ٣٧°م لمدة ٧ ساعات ثم يضاف إليها جزء من لبن الفرس وتحضن على ٢٨°م ويمزج جيدا لتخلل الهواء لمساعدة الخميرة على النمو وعندما تصل الحموضة إلى ٠,٧٪ يعبأ الكوميس في زجاجات ويحكم قفلها ويعاد تحضينه لمدة ساعتين على درجة حرارة ٢٠°م ثم يحفظ بعد ذلك على درجة حرارة ٥°م حتى التوزيع والاستهلاك.

التخمرات المختلفة التى تحدث بالألبان المتخمرة

عملية تخمر اللبن تحت الظروف الطبيعية هي تخمير سكر اللاكتوز وتكوين حمض اللاكتيك مع تجبن الكازين كما أن عملية تخمير اللبن تحت ظروف معينة تؤدى إلى الحصول على الألبان المتخمرة بمختلف أنواعها والتي تختلف في صفاتها الحسية والكيميائية تبعا لطبيعة وخواص ودرجة نشاط الكائنات الحية الدقيقة.

وعملية التخمير من الوجهة الميكروبيولوجية هي عبارة عن عمليات حيوية تقوم بها الكائنات الحية الدقيقة بغرض توفير الطاقة اللازمة لنموها وتكاثرها ونتيجة هذا التخمير تحدث عدة تغيرات في المادة الغذائية تكسبها خواص معينة وتعتبر الكربوهيدرات هي المادة الرئيسية أو المركب الرئيسى لعملية التخمير بفعل الكائنات الحية الدقيقة حيث تحلل سكر اللاكتوز إلى جلوكوز وجالاكتوز والجلوكوز هو المركب الرئيسى لبدء عملية التخمير كما أن الجالاكتوز يتحول إلى مشتقات متشابه مع الجلوكوز

ونواتج عملية تخمير اللاكتوز هى كمايلى:

١-تخمر حمض اللاكتيك والذى ينتج عنه جلوكوز يتحول إلى حمض لاكتيك.

٢-تخمر حمض البروبيونيك وفيه يتحول الجلوكوز إلى حمض لاكتيك ثم إلى حمض بروبيونيك وحمض خليك وثانى أكسيد الكربون.

٣-تخمر حمض الستريك وفيه يتحول حمض الستريك إلى حمض بيروفيك ثم إلى أستيل مثيل كربينول بالإضافة إلى ثنائى أستيل بيوتلين جليكول.

٤-التخمر الكحولي وفيه يتحول الجلوكوز إلى إيثانول بالإضافة إلى ثاني أكسيد الكربون.

٥-تخمر حمض البيروفيك وفيه يتحول الجلوكوز إلى حمض خليك بالإضافة إلى حمض بيوتيريك وإيثانول وأسيتون وثاني أكسيد الكربون.

٦-التخمر الغازي لبكتريا القولون وفيه يتحول الجلوكوز إلى حمض لاكتيك بالإضافة إلى حمض خليك وإيثانول وثاني أكسيد الكربون وهيدروجين وماء.

أولاً: تخمر حمض اللاكتيك Lactic acid fermentation

يطلق عليه تخمر حمض اللاكتيك نتيجة تخمير الكربوهيدرات وتحويلها إلى حمض لاكتيك كناتج أساسى مصاحب لمركبات أخرى وذلك عن طريق البكتريا المتجانسة التخمر في الغالب، وتحول اللاكتوز إلى حمض لاكتيك ويتم ذلك على مراحل حيث :

١- يتم التحلل المائى للاكتوز إلى جلوكوز وجالاكتوز.

لاكتوز ← جلوكوز + جالاكتوز

٢-يتحول الجلوكوز بعد ذلك إلى حمض بيروفيك الذى بدورة يتحول إلى حمض لاكتيك.

جلوكوز ← حمض بيروفيك ← حمض لاكتيك

ونلاحظ أنه لا يحدث تحول للاكتوز إلى حمض لاكتيك بصورة كاملة ولكن نجد أن التخمر ينتج عنه مركبات أخرى تسمى بالمركبات الثانوية والتي تشمل أحماض مختلفة وألدهيدات وكحولات وغازات ، وتختلف طبيعة وكمية هذه المركبات الثانوية باختلاف أنواع الميكروبات وينتج عن التخمر تكوين كمية من حمض اللاكتيك كبيرة تؤدى إلى تكوين خثره وذلك عندما يصل الـ pH إلى ٤,٦.

جلوكوز أو جلاكتوز ← حمض لاكتيك+ مركبات ثانوية

والميكروبات متجانسة التخمير تحول أكثر اللاكتوز إلى حمض لاكتيك بنسبة أكبر من ٩٠٪ ، حمض اللاكتيك المتكون في اللبن يمنع نمو العديد من أنواع

البكتريا وخاصة الأنواع المسببة للعفونة ولذلك فان حمض اللاكتيك يعتبر مادة حافظة فى هذه الحالة.

البكتريا المسئولة عن تخمير حمض اللاكتيك

١-بكتريا كروية والتي تتبع أجناس *Lactococcus, Lactococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Pedicoccus*.

٢-بكتريا عصوية ويتبعها أجناس *Lactobacillus, Bifidobacterium*.

ويجب أن تتميز مزارع البكتريا المنتجة لحمض اللاكتيك بما يلى :

١-القدرة على مقاومة المضادات الحيوية.

٢-القدرة على مقاومة البكتريوفاج.

٣-القدرة على مقاومة بقايا المنظفات والمطهرات.

٤-عدم إنتاج النياسين خاصة في حالة استخدام مزارع مختلطة.

٥-عدم إنتاج أى نواتج تمثيل قد تضر بخواص المنتج.

٦-القدرة على النمو في الظروف المحيطة.

ثانياً: تخمرات حمض الستريك Citric acid fermentation

يحتوى اللبن الطازج على حمض الستريك بنسبة حوالي ٠,٠٢٪ كما قد يضاف حمض الستريك في بعض عمليات التخمر كعامل منشط للإسراع من التفاعل وتعتبر نواتج تخمر حمض الستريك هي المسؤولة عن الطعم والرائحة المميزة لبعض الألبان المتخمرة مثل القشدة المتخمرة، ويعتبر جنس ***Leuconostoc*** من الأنواع الهامة فى تخمر حمض الستريك وسلالات هذا الجنس تنمو على درجة حرارة ٢١°م وتكون مجموعة من مركبات النكهة متمثلة في ثنائي الأسيتيل وحمض البروبيونيك وحمض الخليك وبعض المركبات مثل البيوتلين جليكول والأسيتيل مثيل كربينول وتتوازن هذه المركبات مع بعضها البعض وتعطى مركبات الطعم والنكهة.

ومن ناحية أخرى فإن من سمات هذا التخمر تكوين ثاني أكسيد الكربون والذي يشترك بالطبع في الطعم المميز لنواتج التخمر ولقد وجد أن كمية السترات التي تتواجد في اللبن تبلغ من ٠,١٣ – ٠,١٨٪ وعادة ما يتم تخمير كل هذه الكمية

ويمكن زيادة كمية السترات المسئولة عن الطعم والنكهة عن طريق إضافة حمض الستريك إلى اللبن قبل بدء عملية التخمير أو يضاف سترات صوديوم بنسبة ٠,١٥ – ٠,٢٠٪ كما أن أفراد هذا الجنس لها دور أيضاً في تخمير سكر اللاكتوز وإنتاج حمض اللاكتيك بكمية تكفى لتجبن اللبن.

ثالثاً: تخمرات حمض البروبيونيك Propionic acid fermentation

يحدث هذا النوع من التخمرات في أنواع كثيرة من الجبن مما يؤدى إلى ظهور الطعم المميز لهذه الجبن بجانب تكوين عيون وهى صفة مميزة وواضحة بهذه الأصناف، والميكروبات المسئولة عن هذا التخمر الهام في بعض الصناعات اللبنية هي التي تتبع جنس *Propionibacteirum* وهى بكتريا كروية عصوية غير متجرثمة وتنتج ثاني أكسيد الكربون بالإضافة إلى الأحماض العضوية عند تحليلها للاكتوز ودرجة الحرارة المثلي لنموها هي ٣٠ – ٣٧°م.

وتلعب الميكروبات المسئولة عن هذا التخمر دورا هاما في تسوية الجبن السويسري حيث تنمو ميكروبات هذا الجنس وتحول حمض اللاكتيك إلى حمض بروبيونيك وحمض خليك وثاني أكسيد الكربون.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Class:Actinobacteria

Order:Propionibacteriales

Family:Propionibacteriaceae

Genus:*Propionibacterium*

Species

P. acidifaciens,P. acidipropionici, P. avidum, P.freudenreichii, ,P. microaerophilu, P. olivae,P. propionicus.

رابعاً: التخمر الكحولي Alcoholic fermentation

يحدث هذا النوع في الألبان المتخمرة من النوع الكيفير والكوميس وتتميز باحتوائها على ثاني أكسيد الكربون بكميات كبيرة بجانب كحول الإيثانول بنسبة ١ – ٣٪ وغالباً ما يكون مسئولاً عن هذا التخمر بعض الخمائر التابعة لجنس *Torula, Saccharomyces* والتى تنمو مصاحبة لبكتريا حمض اللاكتيك وهى المسئولة عن هذا النوع من التخمر.

خامساً: تخمر حمض البيوتيريك Butyric acid fermentation

عندما يحدث هذا التخمر في الألبان ومنتجاتها يؤدى إلى حدوث عيوب كبيرة في القوام والتركيب وتكوين طعم ورائحة غير مرغوبة نظرا لتكوين كميات وفيرة من ثانى أكسيد الكربون والهيدروجين، وعادة ما يحدث هذا العيب بكثرة في أنواع من الجبن الجافة خاصة الجبن السويسري ويؤدى إلى ما يسمى بعيب تكوين الغاز المتأخر مما ينتج عنه انتفاخ وانفجار في أقراص الجبن، والبكتريا المسئولة عن ذلك التخمر هى التي تتبع جنس *Clostridium* وهى بكتريا متجرثمة لا هوائية وتقاوم البسترة.

سادساً: التخمر الغازى Gaseous fermentation

يعتبر هذا التخمر من التخمرات التي تسبب تلف وفساد الأغذية عموما حيث تتكون كميات وفيرة من غازى الأيدروجين وثاني أكسيد الكربون واللذان يسببان طفو الخثرة في أحواض التجبن أو ظهور ثقوب صغيرة في أقراص الجبن بعد عملية الكبس مع ظهور أطعمة ورائحة غير مرغوبة والبكتريا المسئولة عن هذا التخمر تنتمى لمجموعة بكتريا القولون، وظهور هذا العيب في اللبن يعنى احتواء اللبن الخام على أعداد كبيرة من البكتريا بسبب إهمال كبير في إتباع أساليب النظافة والشئون الصحية الخاصة بإنتاج اللبن وتداوله، وعموماً فإن البسترة السليمة تقضى على هذه الميكروبات ، أيضاً عملية تخمر حمض اللاكتيك بواسطة بكتريا حمض اللاكتيك تثبط وتمنع نمو هذه الأنواع من البكتريا.

المزارع البكتيرية (البادئات) المستخدمة في صناعة الألبان المتخمرة

تقوم البادئات المستخدمة في صناعة الألبان بدور هام في تصنيع المنتجات اللبنية حيث تكسبها الطعم المميز والخواص التكنولوجية، كما تساهم كثيرا في عملية تسوية الجبن وبعضها لها صفات علاجية وصحية ولذلك تستخدم في تصنيع بعض المنتجات الصحية والبادئات المستخدمة في صناعة الألبان عبارة عن مزارع نقية من سلالات نشطة معينة من البكتريا أو الخمائر أو الفطريات وتنمو في اللبن أو الشرش وهى غير ضارة ، وعادة ما تكون المزارع من ثلاث صور هي:

أ- ميكروب واحد فقط محدد ومعروف الصفات بدقة ويسمى Single-strain culture.

ب- عدة سلالات لميكروب واحد فقط ومحدد الصفات بدقة وتسمى Multi strain culture.

ج-عدة أنواع مختلفة من الميكروبات وتسمى Mixed strain culture.

ويوجد عدة أسس على أثرها يتم اختيار المزارع البكتيرية وهى:

١- معدل نموها. ٢-مقاومتها للفاج.

٣-معدل إنتاجها للحموضة. ٤-معدل إنتاجها من ثاني أكسيد الكربون.

٥-القدرة على تكوين لزوجة. ٦-معدل إنتاجها لمركبات الطعم والنكهة.

هذا وتقسم المزارع البكتيرية المستخدمة في صناعة الألبان المتخمرة إلى:

١- بادئات أساسية ٢- بادئات مساعدة

أولا: البادئات الأساسية

وهى مجموعة من البادئات تستخدم بصفة رئيسية في عمليات تصنيع الألبان المتخمرة بهدف إنتاج حموضة ومعظم هذه البادئات من البكتريا وأهم الأجناس المستخدمة في ذلك هي.

أ- جنس *Lactococcus*

ومنها *Lac. lactis* ss. *lactis, Lac. lactis* ss. *cremoris* وهى كروية موجبة لجرام وغير متجرثمة وغير مقاومة للحرارة ودرجة الحرارة المثلى لنموها ٢٢°م

ومن أهم مميزاتها أنها تنتج حمض لاكتيك بصفة أساسية وتستخدم هذه السلالات في صناعة اللبن الخض المتخمر والقشدة المتخمرة وجبن الكوخ والكثير من أنواع الألبان المتخمرة والجبن.

ب – جنس *Leuconostoc*

يتبعه الأنواع التالية

L. lactis, L. mesenteroides ss. *cremoris,* ss. *dextranicum*
L. mesenteroides.

وهى ميكروبات كروية موجبة لجرام وغير متجرثمة ودرجة الحرارة المثلي لنموها ٢٠°م ومن مميزاتها أنها تخمر السترات وتنتج مواد الطعم والنكهة وتستخدم في صناعة الكثير من الألبان المتخمرة والزبد وبعض أنواع الجبن.

جـ – جنس *Lactobacillus*

ومن أهم ميكروبات هذا الجنس *Lac. acidophilus, Lac. casei, Lac. delbrueckii* ss. *bulgaricus* وهى ميكروبات عصوية موجبة لجرام وتنمو على درجات حرارة مرتفعة حتى ٤٥°م ومن أهم مميزاتها أنها تنتج حموضة بنسبة كبيرة وبعض مركبات الطعم والنكهة وتستخدم في كثير من الألبان المتخمرة مثل الزبادى ولبن الأسيدوفليس والكيفير والكوميس واللبن الخض البلغارى واليوجهورت.

د – جنس *Lactococcus*

ويضم *Str. thermophilus* وهو ميكروب كروى موجب لجرام ومقاوم للحرارة وغير متجرثم وينمو على درجات حرارة مرتفعة وينتج حموضة ويستخدم في تصنيع الزبادي وبعض أنواع الجبن الجافة.

ثانيا: البادئات المساعدة

وهى مزارع بكتيرية أو خميرة أو فطريات تضاف لإكساب المنتج صفات مطلوبة ومرغوبة ومن أهما:

١–جنس *Bifidobacterium*

حيث يستخدم في صناعة بعض أنواع من الألبان المتخمرة لإنتاج ألبان متخمرة علاجية ووقائية.

٢-جنس *Enterococcus*

تستخدم بعض سلالات من هذا الجنس في صناعة بعض أنواع من الألبان المتخمرة خاصة في الدانمارك وذلك لأن بعض سلالات هذا الجنس لها مميزات في علاج التهاب القولون والإسهال.

الفطريات المساعدة

تستخدم بعض الفطريات في إنتاج أنواع من الألبان المتخمرة في بعض الدول الأجنبية حيث يستخدم على سبيل المثال فطر *Geotrichum candidum* في إنتاج لبن متخمر يسمى فيلىViili.

الخمائر المساعدة

تستخدم بعض أنواع من الخمائر في إنتاج بعض أنواع من الألبان المتخمرة مثل لبن الكيفير والكوميس وأهم الأجناس المستخدمة من الخمائر هى *Saccharomyces, Candida, Torula*، ويوجد عدة صور للمزارع البكتيرية التى تدخل فى صناعة الألبان .

العوامل المثبطة لمزارع البادئات

تتعدد العوامل المثبطة لمزارع البادئات وقد يكون ذلك في صورة نقص أو عدم إنتاج الحموضة أو مركبات النكهة عن طريق نقص تخمر السترات وقد يشترك أكثر من عامل في نفس الوقت ومن أهم العوامل التي تثبط مزارع البادئات ما يلي:

١-اللبن

يحتوى اللبن على مثبطات طبيعية مثل اللاكتينين وتختلف نسبة وجودها في الألبان المختلفة ومن حيوان إلى أخر والمعاملة الحرارية تؤدى إلى تكسير اللاكتينين.

٢-اللبن المصاب بالتهاب الضرع

اللبن المصاب بالتهاب الضرع يؤدى إلى حدوث تثبيط لنشاط مزارع البادئ ويرجع ذلك إلى التأثير المثبط لكرات الدم البيضاء على بكتريا البادئ.

٣-اللبن المتزنخ

عند حدوث تزنخ فى اللبن تنفرد أحماض دهنية حرة طيارة تؤدى إلى تثبيط مزارع البادئ.

٤-المعاملة الحرارية للبن

تنمو بكتريا حمض اللاكتيك في اللبن الخام والمبستر على درجة حرارة منخفضة بدرجة أقل من التي تنمو في اللبن المبستر على درجة حرارة مرتفعة.

٥-حرارة النمو

تثبط البادئات عندما يتم تنشيطها على درجات حرارة غير ملائمة لنموها لذا يجب ضبط درجة حرارة النمو لمنع تثبيط البادئات.

٦-ظروف حفظ مزارع البادئات

عادة تحفظ المزرعة الأم والوسطية وبادئ التصنيع قبل الاستخدام لفترة فيجب أن تحفظ هذه المزارع مبردة إذا كانت سوف تستخدم بعد فترة لأن ارتفاع درجة الحرارة يؤدى إلى زيادة الحموضة التي قد تثبط نمو البادئات.

٧-المضادات الحيوية في اللبن

وهى مواد يمكن إنتاجها أو الحصول عليها من بعض الكائنات الحية الدقيقة وهى قادرة على التغير العكسى للوظائف الحيوية الضرورية لميكروبات معينة وبالتالي تقضى عليها ومن أهم مصادر المضادات الحيوية فى الألبان ما يلى:

أ- علاج الحيوان بالمضادات الحيوية حيث يحتجز المضاد الحيوى بواسطة أنسجة الضرع وينزل مع اللبن لذلك لابد من عدم استخدام لبن ناتج من ماشية تم حقنها بالمضادات الحيوية إلا بعد مرور ٧٢ ساعة من أخر جرعة حتى يزول أثر المضاد الحيوي.

ب-بعض أنواع الميكروبات تفرز مضادات حيوية مثل ***Lac. lactis* ss. *lactis*** والتي تفرز مضاد حيوي يطلق علية النيسين **Nisin**.

وتقوم المضادات الحيوية بتثبيط المزارع البكتيرية عن طريق تأثيرها على تنفس الكائنات الحية الدقيقة ومن أهم المضادات الحيوية التي تؤثر على عمل الميكروبات البنسلين ، الإيروميسين ، الإستربتوميسين ، الثيروميسين.

٨-المواد الحافظة في اللبن

وهى مواد كيميائية تضاف إلى اللبن بغرض حفظة أو تقليل أو إيقاف نشاط الميكروبات المسببة للفساد ويرجع التأثير المثبط للمادة الحافظة إلى تأثيرها على جدار الخلية الميكروبية ويوقف التفاعلات التي تتم بداخل الخلية كما أنها تسبب بلزمة للخلية وتسبب موتها.

والعوامل المحددة لتأثير المواد الحافظة تعتمد على :

أ- درجة الحرارة. ب- نوع المادة الحافظة.

ج-النسبة المضافة من المادة لحافظة. د-عدد الميكروبات في اللبن وأنواعها.

ويوجد نوعين من المواد الحافظة هما:

-مادة حافظة طبيعية مثل اللاكتينين والليسوزيم والتى توجد في اللبن.

-مادة حافظة تضاف إلى اللبن مثل ملح الطعام وفوق أكسيد الأيدروجين والفورمالين والسوربات.

٩-البكتريوفاج

يعرف البكتريوفاج على أنه فيروس يقوم بتحليل البكتريا الحساسة لها ويعتبر البكتريوفاج من أكبر العقبات التي تواجه صناعة البادئات والألبان ولعل السبب في صعوبة التحكم فيها هو صعوبة دراستها ويرجع ذلك إلى:

-صغر حجم جزيئاتها وصعوبة رؤيتها بواسطة الميكروسكوب العادى.

-كثرة عددها عند تحلل الخلايا والتي تلوث الهواء والأدوات في المصنع.

والفاج متخصص جدا إلى حد إصابته سلالة معينة من نوع معين من البكتريا بجانب عوامل أخرى تحدد درجة الإصابة مثل:

أ-كمية جزيئات الفاج الملوثة للبن.

ب-معدل نمو البكتريا.

ج-نسبة الكالسيوم إلى الفوسفات.

لذلك يجب استبدال البادئ المصاب وكذلك تعقيم الحجرات جيدا وتسخين اللبن جيدا حتى يتم مقاومة الفاج.

ميكروبيولوجيا الألبان المكثفة

Microbiology of concentrated (condensed)milk

في هذه الألبان ينزع جزء من المحتوى المائي (الرطوبة) بغرض تقليل تكاليف النقل والتسويق حيث يقل حجم ووزن هذه الألبان وتدخل هذه الألبان في العديد من الصناعات اللبنية وخاصة صناعة الأيس كريم وينقسم إلى قسمين:

١-لبن مكثف محلى.

٢-لبن مكثف غير محلى ويطلق عليه إما لبن مبخر للتعبئة في عبوات صغيرة أو لبن مركز للتعبئة في عبوات كبيرة.

الألبان المكثفة غير المحلاة

تعتبر الألبان المكثفة غير المحلاة هي الأكثر شيوعاً وتتميز بأن لها فترة حفظ أطول على درجة حرارة الغرفة بعد إجراء عملية التعقيم وتصنع عن طريق تسخين اللبن تسخيناً مبدئياً على درجة حرارة ٩٤ – ١٢٠°م لمدة ٤ – ٢٠ دقيقة ثم التبخير تحت تفريغ على ٤٩ – ٥٥°م حتى يصل اللبن إلى نسبة التركيز المطلوبة ثم يعبأ ويعقم على درجة ١١٤ – ١١٨°م لمدة ١٥ – ٢٠ دقيقة، وكل هذه المعاملات لها تأثير على المحتوى البكتريولوجى لهذه الألبان حيث أن التسخين المبدئي رغم أنه يجعل البروتين ثابت حرارياً عند عملية التعقيم إلا أنها تؤدى إلى القضاء على الميكروبات المرضية والخلايا الخضرية للميكروبات الأخرى التي قد توجد في اللبن الخام كما أن عملية التعقيم تقضى على معظم الكائنات الحية الدقيقة المتبقية في الناتج بعد المعاملات السابقة مما يضمن خلو الناتج من الميكروبات القادرة على النمو والتكاثر وهناك عوامل عديدة تؤثر على مدى فاعلية المعاملة الحرارية المستخدمة لتعقيم الناتج وتتلخص هذه العوامل في:

أ-وجود سلالات شديدة المقاومة للحرارة.

ب-عدد الخلايا البكتيرية عند بدء المعاملة الحرارية للتعقيم.

ج-نوعية الجراثيم الموجودة من ناحية عمرها والظروف البيئية المحيطة بها من حرارة و pH وغيرها.

د-إجراء عملية التبريد بسرعة بعد المعاملات الحرارية مباشرة.

العيوب التي تنشأ في الألبان المبخرة (المكثفة) بفعل الميكروبات

تنقسم العيوب التي يكثر حدوثها في اللبن المبخر إلى قسمين هما:

١-عيوب تنشأ بسبب جراثيم الميكروبات المقاومة للمعاملة الحرارية العالية وأهمها:

أ-انتفاخ العلب

ويرجع هذا العيب نتيجة تكوين كمية كبيرة من الغازات داخل العلب بسبب نمو بعض أنواع من البكتريا التابعة لجنس ***Clostridium*** وهى بكتريا لاهوائية وتكوين الغاز مصحوبا بتعفن البروتين ورائحة غاز كبريتيد الأيدروجين ووجد أن جراثيم ميكروب ***Cl. foetidum*** لها القدرة على مقاومة المعاملة الحرارية على ١١٨°م/١٥ دقيقة.

ب- تجبن اللبن

ويحدث هذا العيب نتيجة ارتفاع الحموضة في اللبن بسبب نمو جراثيم بعض الميكروبات التابعة لجنس ***Bacillus*** التي قد تؤدى إلى تخثر اللبن وظهور الطعم الجبنى والتي منها ***B. coagulans*** كما أن هناك بعض من سلالات هذا الجنس مثل ***B. cereus, B. subtilis*** يسببان أيضاً تخثر اللبن بسبب إفرازهم لإنزيم مشابه لإنزيم الرنين والذى يؤدى إلى تجبن اللبن.

ج-الطعم المر

يحدث هذا العيب بسبب تحلل البروتين نتيجة لنمو جراثيم جنس ***Bacillus*** المقاومة للحرارة الشديدة مثل ***B. subtilis*** كما أن هناك بعض سلالات من جنس ***Clostridium*** يسبب حدوث هذا العيب.

٢-عيوب تنشأ بسبب التلوث الناتج بعد المعاملة الحرارية

وفيها يحدث التلوث البكتيرى بكل من البكتريا المتجرثمة وغير المتجرثمة نتيجة أن العلب غير محكمة القفل أو بها ثقوب أو يوجد صدأ بالعلب أو لحدوث تلف ميكانيكى أثناء عملية القفل ونتيجة هذا أمكن عزل بعض سلالات من بكتريا القولون والتي تسبب عيوب كثيرة من تكوين الغازات كذلك وجود بكتريا حمض اللاكتيك التي تسبب تجبن اللبن كما أمكن عزل بعض أنوع تابعة لجنس ***Pseudomonas*** التي

قد تسبب ظهور الطعم السمكي في اللبن المبخر كما قد تتواجد بعض أنواع من الخمائر التي تسبب بعض الطعوم الغير مرغوبة وأن جميع هذه الميكروبات غير مقاومة لحرارة التعقيم مما يشير إلى حدوث تلوث للناتج بعد تعقيمه لهذا يجب على المستهلك أن يعلم جيدا بإمكان سرعة تلف هذا المنتج بعد فتح العبوة بوقت قصير وأنه يجب حفظ العلب المفتوحة في الثلاجة مع العناية بنظافة سطح العبوة المفتوحة باستمرار لتقليل فرص التلوث الميكروبي بقدر الإمكان.

اللبن المكثف المحلى

يمكن أن يصنع هذا اللبن من اللبن الكامل الدسم أو اللبن الفرز أو النصف دسم وتعبأ هذه الألبان في عبوات صغيرة للاستهلاك المنزلي أو في براميل لاستخدامها في مصانع الحلويات والأيس كريم وغيرها وتمر مراحل تصنيع الألبان المكثفة المحلاة بالمراحل التالية:

١- تسخين مبدئي قبل إضافة السكر يصل إلى ٨٢ - ١٠٠°م لمدة ١٠ - ٣٠ ثانية.

٢- إضافة السكر.

٣- التكثيف على درجة حرارة ٥٧°م تحت تفريغ ثم تنخفض إلى ٤٨°م ثم التبريد.

ومن هذه الخطوات نجد أن عامل الحفظ في هذه الألبان التي لا تعقم هو عملية التسخين المبدئي الأولى والتي تقتل الميكروبات المرضية والخلايا الخضرية وكثير من الميكروبات الأخرى كما أن عامل الحفظ أيضاً في هذه الألبان هو سكر السكروز المضاف الذي يخلق زيادة في الضغط الأسموزي كما يعتمد الحفظ أيضاً على تركيز المواد الصلبة باللبن نتيجة لعملية تبخير جزء من الماء.

أهم العيوب الميكروبيولوجية التي قد تحدث باللبن المكثف المحلى

١- تكوين غازات Gassines

يحدث هذا العيب نتيجة لوجود خمائر من جنس *Candida* وكذلك بعض سلالات من بكتريا القولون وهذا العيب شائع الحدوث في اللبن المكثف المحلى حيث تمتلىء وتنتفخ العبوة بغاز ثاني أكسيد لكربون أو خليط مع غاز الأيدروجين الذي

ينتج من تخمر اللاكتوز والسكروز ويكثر ظهور هذا العيب في الطقس الحار وهذه الميكروبات لا تقاوم حرارة التسخين المبدئي لذلك فإنها وصلت إلى اللبن بعد التسخين المبدئي لذلك يجب العناية بالأدوات وتعقيم الأجهزة والعناية بعملية التعبئة.

٢- الأزرار الملونة Colored buttons

يرجع هذا العيب إلى نمو بعض أنواع الفطريات مكونة الأزرار وهى عبارة عن نموات صغيرة من ميسيليوم الفطر تؤدى إلى تجمع الكازين على سطح العلب ويختلف لونها من الأبيض إلى البني وينمو الفطر حتى ينتهي الأكسجين الموجود في فراغ العبوة ثم يقف عن النمو مما يجعل هذا العيب يبدو في شكل الأزرار وقد تستمر الأزرار في الازدياد في الحجم لاستمرار النشاط الإنزيمى واهم الأجناس المسئولة عن هذا العيب هي أجناس فطريات ***Aspergillus***, ***Penicillium*** ويحدث هذا العيب نتيجة غياب النواحي الصحية الجيدة بمصانع الألبان وكذا الحفظ على درجات حرارة مرتفعة نسبياً ولتلافي حدوث هذا العيب يجب :

١- ملىء العلب حتى نهايتها.

٢- تعبئة العلب تحت تفريغ.

٣- التخزين على درجات حرارة منخفضة.

٤- العناية بنظافة وتعقيم الأجهزة المختلفة بالمصنع.

٣- غلظة القوام Thickening

يظهر هذا العيب مصحوبا بتكوين حموضة ونكهة الجبن ويظهر في المنتج ذو المحتوى المنخفض من السكر ويكون مسئولاً عن هذا العيب بعض سلالات من جنس ***Micrococcus*** وبعض الخمائر كذلك بعض أنواع من البكتريا المنتجة لإنزيمات مشابهة لإنزيم الرنين ويسبب هذا العيب غلظة في القوام للبن المكثف المحلى وتعتبر نظافة وتعقيم الأجهزة والعناية بالتعبئة والتخزين على درجات حرارة منخفضة من أهم العوامل التي تمنع حدوث هذا العيب.

ميكروبيولوجيا الألبان المجففة

Microbiology of dried milk

يعتبر اللبن المجفف من أقل منتجات الألبان تعرضا للتلوث وللعيوب الميكروبيولوجية ويصعب نمو وتكاثر الميكروبات باللبن المجفف وهناك طريقتين أساسيتين في تجفيف اللبن:

١- طريقة التجفيف بالرزاز Spray drying

٢- طريقة التجفيف بالإسطوانات Roller drying

وعموماً فان عملية التجفيف سواء بالرزاز أو الإسطوانات تمر بمراحل مختلفة تؤثر هذه المراحل على المحتوى الميكروبى للبن المجفف واهم هذه المراحل هى:

١-التسخين الميدئى

وفيها يتم تسخين اللبن الخام على ٦٥ – ٨٥°م لمدة ١٠ – ٣٠ دقيقة حيث تؤدى هذه العملية إلى قتل معظم الأنواع البكتيرية ما عدا شديدة المقاومة للحرارة وكذلك إتلاف جميع الإنزيمات التي تتواجد باللبن.

٢-تجفيف اللبن

فى حالة التجفيف بالرزاز يكثف اللبن أولا على ٥٤°م ثم يجفف على ٧٠°م والجودة البكتريولوجية للناتج تكون أقل عنها في حالة التجفيف بالإسطوانات حيث يتعرض اللبن إلى درجة حرارة ١٤٨°م والى ١٠٠°م ثم يجفف تحت تفريغ حيث تؤدى هذه العملية إلى قتل البكتريا بمعدل كبير.

٣-التعبئة

يعبأ اللبن المجفف تحت تفريغ في عبوات مناسبة لمنع وصول الرطوبة لذلك تكون الظروف غير مناسبة لنمو الميكروبات ثم يخزن بعد ذلك ولوحظ أن محتوى اللبن المجفف من البكتريا يقل أثناء التخزين خلال الثلاث أو الأربع شهور الأولى بعد الصناعة.

الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في اللبن المجفف

يتوقف محتوى اللبن المجفف من البكتريا على عدة عوامل أهمها:

١- محتوى اللبن الخام من البكتريا بصفة عامة ومن البكتريا المقاومة للحرارة بصفة خاصة.

٢- درجة نظافة وتعقيم الأجهزة المستخدمة.

٣- العناية بعمليتي التعبئة والتخزين.

وأهم أنواع الميكروبات التى يمكن وجودها في اللبن المجفف:

- **مجموعة البكتريا الكروية التابعة لجنس*Micrococcus, Lactococcus*.**
- **مجموعة البكتريا العصوية المتجرثمة الهوائية مثل التابعة لجنس *Bacillus*.**
- **كما وجدت في بعض الحالات القليلة بعض أعداد من البكتريا التابعة لمجموعة القولون (بكتريا القولون) وكذلك بعض الخمائر والفطريات.**

ويعتبر وجود مجموعة القولون والفطر والخمائر دليلاً على عدم العناية بعملية التعبئة والتخزين بعد التصنيع.

ميكروبيولوجيا الجبن

Microbiology of cheeses

تعتبر صناعة الجبن من أهم الطرق المستخدمة لحفظ مكونات اللبن لفترات طويلة تزيد كثيرا عن اللبن السائل حيث يوجد العديد من أصناف الجبن في جميع أنحاء العالم مقسمة تحت العديد من الأنواع التي تختلف عن بعضها تبعاً لبلد المنشأ ونوع البادئات المستخدمة في التصنيع وغيرها.

وعموماً يصنع الجبن إما بالتجبن الحمضى أو الإنزيمي أو كلاهما معا ويتم التخلص من معظم الرطوبة الموجود أثناء خطوات التصنيع وقد يستهلك الجبن طازجاً أو يحفظ لبعض الوقت بغرض إعطاء فرصة لبعض الميكروبات والإنزيمات سواء كانت إنزيمات المنفحة أو اللبن لإحداث تغيرات مرغوبة في الطعم والنكهة وهو ما يعرف بعملية التسوية وعموماً يمكن تقسيم الجبن إلى ثلاث أقسام رئيسية:

١- طرية ٢- نصف جافة ٣- جافة

أولاً: ميكروبيولوجيا الجبن الطرية

Microbiology of soft cheeses

تتميز أصناف الجبن الطرية بارتفاع نسبة الرطوبة بها والتي تصل إلى ٧٠٪ وهى طازجة ولا تقل عن ٥٠٪ بعد التسوية وتتميز أيضاً بأن تسويتها تتم في فترة قصيرة إذا ما قورنت بتسوية الجبن الجاف أو النصف جاف.

ومن أصناف الجبن الطرية التى تتواجد فى السوق المحلى:

١-الجبن الدمياطى

ويعتبر من أهم أصناف الجبن الطري الشائع إنتاجه واستهلاكه في مصر ويستهلك هذا الصنف طازجاً أو قد يسوى عن طريق وضع الجبن في صفائح أو أوعية من البلاستيك في كمية من الشرش لمدة تتراوح ما بين ١ – ٣ أشهر وأتضح أنه في الأسبوع الأول من التسوية تكون الميكروبات السائدة من جنس *Lactococcus lactis ss lactis* وبعض أفراد من جنس *Leuconostoc* ثم

تأخذ في النقصان حتى نهاية الأسبوع الثالث ثم في نهاية الأسبوع الثاني من التسوية فإن سلالات جنس ***Lactobacillus*** تزداد في الأعداد حتى تصبح هي السائدة في الأسبوع الثالث وأمكن عزل سلالات من جنس ***Micrococcus*** من الجبن الدمياطي المرتفع في نسبة الملح حيث أن هناك بعض السلالات التابعة لهذا الجنس تستطيع تحمل نسب الملح المرتفعة التي تضاف أثناء صناعة الجبن الدمياطي حيث تستطيع النمو وتساهم في تسوية الجبن ولوحظ أن نسبة الملح المضافة إلى الجبن الدمياطي لها تأثير واضح على أعداد وأنواع البكتريا الموجودة في الجبن أثناء التسوية.

أما من ناحية بكتريا القولون فإنها وجدت في العينات إلا أنها تختفي بعد أسبوعين من التسوية

٢-الجبن القريش

يعتبر الجبن القريش من أكثر الأنواع الشائعة في مصر خاصة في الريف المصري لسهولة تصنيعه حيث يصنع من لبن منزوع الدسم مثل اللبن الرايب أو الفرز أو الخض ويصنع بإحدى طريقتين هما:

أ- الطريقة التقليدية (البلدية)

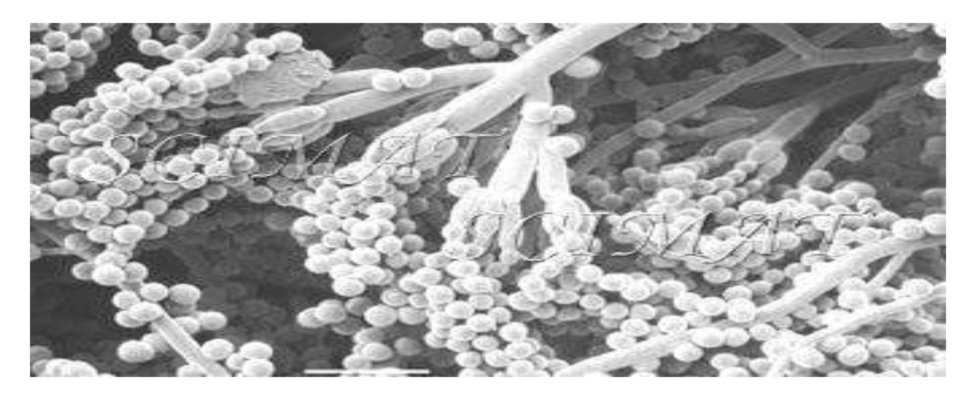
حيث يصنع الجبن القريش من اللبن الرايب وهو المتبقى بعد نزع الدهن أو القشدة من اللبن الكامل بطريقة الجاذبية الأرضية والتي تعرف بعملية الترقيد وحدوث تجبن للبن بواسطة الميكروبات الموجودة به، بعدها تنقل الخثرة إلى الحصيرة وتترك لتصريف الشرش وطبقا لهذه الطريقة في التصنيع فإن المجموعة الميكروبية للبن الخام وما أكثر أنواعها في اللبن الخام المصري هي التي تحدد أنواع الميكروبات لهذا الصنف من الجبن وعموماً فإن الأنواع السائدة تتبع أجناس ***Lactococcus, Bacillus, Lactobacillus, Micrococcus*** بجانب وجود بعض أعداد من ميكروبات القولون.

ب- الطريقة المحسنة

تستخدم هذه الطريقة في المصانع عن طريق استخدام اللبن الفرز الطازج في حالة توفره أما في حالة انخفاض كميتة يمكن تدعيمه بلبن فرز مجفف مسترجع وفى هذه الطريقة يتم بسترة اللبن بهدف القضاء على الميكروبات المرضية التي تسبب عيوب وفساد للمنتج ، وبعد التبريد يتم إضافة بادئ نشط من بكتريا حمض اللاكتيك بمعدل ٣ – ٤٪ ذلك من سلالات جنس *Lactococcus* وجنس *Leuconostoc* بغرض إنتاج الحمض ومركبات النكهة المرغوبة وفى هذه الطريقة يمكن السيطرة على عدد ونوعية الميكروبات المحتمل وجودها في الجبن القريش الناتج.

٣-الجبن المسوى بالفطريات السطحية

وهى أنواع من الجبن الطري الذي يسوى بالفطر سطحيا حيث ينمو الفطر على سطح الجبن معطياً لوناً ابيض وتكون التسوية من الخارج إلى الداخل والجبن الناتج له طعم ورائحة مميزة مختلفة عن أنواع الجبن الأخرى وذلك نتيجة لنشاط الفطر وإنتاج الإنزيمات المحللة للبروتينات والدهون ويوجد منها عدة أنواع أهمها جبن الكممبرت ، أما الفطريات التي تستخدم في هذه الصناعة فعادة ما تتبع جنس *Penicillium* ويستخدم منة سلالات *P. camemberti, P. candidum* وكذلك فطر *Geotrichum candidum*.



شكل(٦-٩): يوضح شكل فطر *P. camemberti*

حيث تستخدم مزارع الفطريات في اللبن بهدف تسوية الجبن حيث ينمو في صورة خلايا تعرف بالميسيليوم **mycelium** حيث تفرز إنزيمات محلة للدهون والبروتينات

لإعطاء نكهة وطعم مميز للجبن وكذلك تحسين قوام وتركيب الجبن وتنمو الفطريات في ظروف هوائية حيث تحتاج إلى الأكسجين في نموها ويغطى الفطر الأبيض السطح الخارجي للجبن، وبعد تسوية الجبن يكون لون الحافة كريمى ويميل إلى اللون البني الخفيف.

وتتكون المجموعة الميكروبية لهذا النوع أساساً من *L. lactis* ss *lactis* المسئول عن توفير الوسط الحمضى اللازم لنمو الفطر *G. candidum* ثم فطر *P. camemberti* على سطح الجبن ويغطيه ويقوم بتحليل البروتين والدهون وحمض اللاكتيك مما يعطى الفرصة لنمو ميكروب *B. linens* الذي ينمو على السطح مفرزا صبغة برتقالية ويصبح معد للاستهلاك في نهاية الأسبوع الثالث.

ثانياً: ميكروبيولوجيا الجبن النصف جافة

Microbiology of semi-dry cheeses

تعتبر هذه المجموعة من أصناف الجبن ذات صفات وخواص تتوسط مجموعة الجبن الطرية والجافة وكل أصناف هذه المجموعة تستهلك بعد تسويتها وتتراوح نسبة الرطوبة بها ما بين ٤٠ – ٥٠٪ ويوجد منها العديد من الأنواع وأهمها هي المعرق بالفطر والمسوى سطحياً بالبكتريا كذلك أصناف الجودا أو الفلامنك، ومن أشهر أنواع الجبن النصف جافة الموجودة بالسوق:

١-جبن الجودا

جبن نصف جاف يصنع من لبن بقرى أو جاموسى أو خليط منهما ويسوى في خلال ٣ – ٤ شهور من إنتاجه ويستخدم في إنتاجه بادئات من بكتريا حمض اللاكتيك ، ويتميز هذا النوع من الجبن بنمو ونشاط بكتريا البادئ المضاف والتي تحتوى على أجناس *Lactococcus* في البداية ثم تختفي بعد ذلك وتنشط أعداد من البكتريا العصوية من جنس *Lactobacilli* وتكون في زيادة مستمرة حتى نهاية فترة التسوية كما يحتوى هذا الصنف أيضاً على بكتريا تابعة لجنس *Micrococcus* كما توجد أعداد من *Enterococcus*.

٢-الجبن المعرق بالفطر

ينتج الجبن المعرق بالفطر أو ما يعرف بالجبن الأزرق منذ عدة قرون حيث يتبع في إنتاج هذا الصنف عدة خطوات أساسية ولكن الاختلاف في الأنواع يرجع إلى نوع اللبن المستخدم والمعاملات التي تجرى عليه ونوع البادئ المستخدم وكمية وطريقة إضافة الفطر والفطر المستخدم في صناعة هذا النوع من الجبن المعرق بالفطر هو فطر *Penicillium roqueforti* وعند نمو هذا الفطر يعطى لون أزرق أو أخضر مزرق ويمنع نمو الفطريات الغير مرغوبة بالإضافة إلى إفراز الإنزيمات التي تحلل الدهن والبروتين وتعطى الجبن القوام والتركيب والطعم والرائحة المرغوبة ويتحمل هذا الفطر التركيز العالي من الملح والذي يصل إلى ٥٪ وله القدرة على النمو في تركيز منخفض من الأكسجين وتركيز مرتفع من ثاني أكسيد الكربون.

ومن أهم أنواع الجبن المعرق بالفطر أو الجبن الأزرق جبن الروكفورت – جبن الجورجونزولا – جبن الأستيلتون وتتميز هذه الأنواع بأن تسويتها تتم عن طريق نمو فطر *P. roqueforti* ولكن هناك تغيرات ميكروبية متعددة تحدث أثناء تسوية هذا الصنف تتلخص مراحلها في الأتى:

أ- في الأيام الأولى من الصناعة تكون الميكروبات السائدة في النمو هي التي تتبع جنس *Lactococcus* المضاف على صورة بادئ ثم تبدأ في النقصان حتى تختفي خلال ١٥ – ١٨ يوم من التصنيع.

ب-بعد ثلاثة أسابيع تنمو على السطح بعض الخمائر سرعان ما تختفي ويحل محلها بعض الأنواع التابعة لجنس *Micrococcus* بجانب ميكروب *B. linens*

ج-يتلاشى نمو الميكروبات السابقة مع زيادة نمو فطر *P. roqueforti* حيث يبدأ في النمو بعد حوالي ٤ أسابيع من بدأ الصناعة ويكون حوالي بعد ١٠ أيام من وخز الأقراص أى تثقيبها للسماح للهواء بأن يتخلل الأقراص من الداخل ويصل النمو أقصاه بعد حوالي ثلاثة أشهر والتي يتكون خلالها مركبات الطعم الأساسية المميزة لهذا الصنف بكميات واضحة والتي تتمثل أساساً في نواتج تحلل الدهن.

٣-الجبن المسوى سطحيا بالبكتريا

تتم تسوية أصناف هذا الجبن نتيجة لنمو ونشاط الميكروبات على سطح الجبن ومن أهم أصناف هذا الجبن هي:

أ-جبن البريك

وهو من الجبن الأمريكية النصف جافة ويصنع من لبن كامل الدسم مبستر بالتجبن الحمضى الإنزيمى ويستخدم بادئ مكون من خليط من *Str. thermophilus, Lac. lactis ss. lactis* وإجراء عملية السمط أثناء تصنيع هذا النوع من الجبن يقلل من بكتريا البادئ المستخدمة وتعتمد تسوية هذا الجبن على النمو السطحي لبعض الخمائر وبعض أنواع من جنس *Micrococcus* والميكروب *B. linens* ولا ينمو به أى فطريات مما يجعل الطعم الناتج معتدل ونمو هذه الميكروبات على السطح يعمل على تحليل البروتين ويعطى النكهة والطعم المميز لجبن البريك Brick.

ب-جبن اللامبرجر

يعتبر أحد أصناف الجبن النصف جافة ويصنع بالتجبن الإنزيمى والحمضى حيث يستخدم فيه بادىء مختلط من *Str. thermophilus, L. lactis* ss. *lactis* ويسوى على ١٦°م ويرش على سطح الجبن الملح ثم يلقح سطح الأقراص من نمو سطحي لأقراص قديمة والتي تحتوى على ملايين من خلايا الخميرة ومئات الملايين من خلايا البكتريا حيث تبدأ الخمائر بالنمو أولاً على السطح مع الفطر *G. candidum* التي تقلل من حموضة سطح الأقراص فتصبح مناسبة لنمو *B. linens* وبذلك تكتمل المجموعة الميكروبية المسئولة عن تسوية هذا الصنف والذي يعتبر من الأصناف الحريفة الطعم بوضوح.

ثالثاً: ميكروبيولوجيا الجبن الجافة

Microbiology of dry cheeses

يتميز الجبن الجاف بانخفاض في نسبة الرطوبة به حيث لا تزيد عن ٤٠٪ وتتعدد أصناف الجبن الجاف ومن أشهرها الجبن الراس المصري وجبن الكاشكافال وكذلك الأصناف الأجنبية مثل الجبن السويسرى والتشدر وغيرها، والصفات التي يكتسبها الجبن الجاف ترجع لفعل الميكروبات الموجودة في الوسط والتي تشترك في تسوية الجبن الجاف عن طريق المركبات التى تنتج نتيجة نشاط البادئ، وباختلاف المجاميع الميكروبية ونوع اللبن وطريقة الصناعة ومدة التسوية تختلف الأصناف عن بعضها البعض لذا سنذكر بعض الأمثلة على تلك الأنواع من الجبن كما يلي:

١-الجبن الراس

يصنع هذا الصنف بالتجبن الحمضى الإنزيمى ويحتوى البادئ المستخدم في الصناعة على البكتريا الكروية والعصوية حيث تبدأ في النمو أولا البكتريا الكروية متمثلة في أنواع من جنس ***Lactococcus*** ، ثم تنمو بعد ذلك وبعد مرور حوالي ثلاث أسابيع من التسوية البكتريا العصوية وتصبح هى السائدة حتى نهاية مدة التسوية وهى متمثلة في سلالات من جنس ***Lactobacillus*** وتتواجد بعض أنواع من جنس ***Micrococcus*** والتي تتحمل نسبة الملح العالية حيث تنمو وتنتج إنزيمات تساعد على تحليل البروتين وتحويل حمض اللاكتيك بعد ذلك إلى حمض بيروفيك وانخفاض الحموضة والتي تجعل الوسط مناسب لنمو بعض أنواع من البكتريا مثل ***B. linens***

٢-الجبن التشدر

في هذا النوع من الجبن يستمر نمو ونشاط بكتريا البادئ المضاف والمحتوية على ***Lac. cremoris, Lac. lactis*** ss. ***lactis*** لمدة ٢ – ٣ شهور بعد التصنيع ثم تقل أعدادها بعد ذلك ثم تختفي وفى نفس الوقت تزداد أعداد السلالات من جنس ***Lactobacillus*** حتى نهاية مدة التسوية كما قد يحتوى هذا النوع على بعض سلالات من جنس ***Micrococcus***.

٣-الجبن الإمنتال السويسرى

أهم ما يميز جبن الإمنتال السويسرى هو وجود ثقوب داخل الأقراص يبلغ قطرها ٢ – ٢,٥سم والمسافة بينهما من ٥ – ٨ سم حيث يصنع من لبن خام أو مبستر ويستخدم في صناعته بادئات تحتوى على ثلاث ميكروبات على الأقل هى:

Str. thermophilus

L. lactis ss. lactis, L. helveticus

Propionibacterium reudenreichii ss*.shermanii*

حيث أن الميكروب الأخير مسئول عن تكوين غاز ثاني أكسيد الكربون نتيجة لأكسدة اللاكتات وتحويلها إلى بيروفات.

ولكي يكتسب الجبن الطعم والقوام والتركيب المميز له لابد من تخزين الجبن الطازج تحت درجات حرارة ورطوبة نسبية معينة لفترات مختلفة وتسمى هذه العملية بعملية تسوية الجبن وجميع أنواع الجبن الجاف ومعظم أنواع الجبن النصف جافة وعديد من الجبن الطرية تسوى لفترات زمنية تختلف حسب نوع المنتج حيث يحدث خلال هذه الفترة من التسوية تغيرات بيوكيميائية وطبيعية ينتج على أثرها اكتساب الجبن لصفات المميزة له من طعم ونكهة وقوام وتركيب ناعم أملس وغيرها من التغيرات المطلوب الحصول عليها في الجبن الناتج، وميكانيكية حدوث تلك التغيرات تحكمها عدة عوامل مختلفة منها:

١- الpH .

٢-المحتوى من للرطوبة.

٣-نسبة الملح وطريقة التمليح.

٤-درجة حرارة التسوية.

٥-طبيعة الميكروبات أى نوعية البادئات الثانوية والتي تنمو في الجبن أو على سطح الجبن.

عوامل التسوية فى الجبن

تتمثل عوامل التسوية في الجبن في:

١- المنفحة وبدائل المنفحة.
٢- إنزيمات اللبن الطبيعية والتى تلعب دورا هاماً عند صناعة الجبن من اللبن الخام.
٣- بكتريا البادئ والتى تنتج منها إنزيمات بعد موتها وتحللها الخلايا.
٤- الإنزيمات الناتجة من البادئ المساعد (الثانوي) مثل بكتريا حمض البروبيونيك والخمائر والفطريات والتي تكون على جانب كبير من الأهمية في صناعة بعض الأنواع.
٥- بكتريا بخلاف البادئات وتشمل البكتريا المقاومة للبسترة والتي تظل في اللبن بعد البسترة كذلك البكتريا التي تصل إلى اللبن مباشرة أثناء التصنيع حيث ينطلق من هذه البكتريا إنزيمات تساهم في التسوية ولكن قد تؤثر هذه الميكروبات تأثيرات سلبية على تسوية الجبن نتيجة لعدم معرفة نوعية السلالات التي قد تصل إلى الخثرة.

التغيرات الطبيعية والكيميائية التي تحدث أثناء تسوية الجبن

يحدث في الجبن ثلاث تفاعلات أساسية أثناء التسوية هي تحلل السكريات (اللاكتوز) وتحلل البروتين وتحلل الدهن وتلك التفاعلات تعتبر مسئولة بدرجة رئيسية عن التغيرات الأساسية في القوام والتركيب البنائى للجبن كما أنها تعتبر مسئولة بدرجة كبيرة عن الطعم الرئيسى أو الأساسى في الجبن كما أن هناك تفاعلات ثانوية تعتبر مسئولة عن ظهور الطعم والتركيب المميز لنوع الجبن، وفيما يلى أهم التغيرات التى تحدث بالجبن إثناء التسوية.

أولا: التغيرات الطبيعية

١- نقص في الوزن نتيجة التبخير ويتوقف الفقد في الرطوبة على درجة الحرارة والرطوبة في غرف التسوية وحجم وشكل أقراص الجبن ووسيلة تغطيتها.
٢- يتغير قوام الجبن من القوام الجامد إلى اللين المرن نتيجة التحلل البروتينى أثناء التسوية.

٣-ظهور النكهة المرغوبة للجبن وزيادة وضوحها بتقدم فترة التسوية.

ثانيا: التغيرات الكيميائية

١-الماء

لا يحدث له تغير سوى فقد جزء منة بالتبخير.

٢-اللاكتوز

يتحول خلال مرحلة التصنيع إلى حمض لاكتيك بواسطة بكتريا البادئ وبعد أسبوعين تقريباً يختفى اللاكتوز من الجبن كما يتحول جزء من حمض اللاكتيك إلى أحماض عضوية ومركبات أخرى بكميات صغيرة تلعب دورا هاماً في إظهار نكهة الجبن كما في حالة الجبن السويسرى وينتج من تحلل حمض اللاكتيك أيضاً غاز ثاني أكسيد الكربون.

٣-البروتين

يعتبر تحلل البروتين من أعقد التفاعلات التي تحدث أثناء عملية التسوية كما يلعب دورا على جانب كبير من الأهمية في تكوين التركيب البنائى والطعم خاصة في الجبن التي تسوى داخلياً بالبكتريا وتختلف درجة تحلل البروتين في الجبن فمنها تحلل بسيط محدود كما في حالة الجبن الموزاريللا أو تحلل شامل كما في الجبن المسواه بالفطر وتحلل البروتين بفعل عوامل التسوية السابق ذكرها من إنزيمات وميكروبات إلى مواد أقل تعقيدا منها البروتيوزات والببتونات والببتيدات والأحماض الأمينية وتزداد نسبة تلك المواد في الجبن الطري المسوي عن الجبن الجافة كما تزيد بزيادة مدة التسوية كما تتكون مركبات وسطية مثل الفينولات والأمينات وغيرها ويساهم تحلل البروتين في تسوية الجبن من خلال :

أ- إعطاء الطعم الميز عن طريق الأحماض الأمينية والببتيدات التي قد تسبب طعم غير مرغوب خاصة المرارة.

ب-تغيرات في الـ pH نتيجة تكوين الأمونيا.

ج-تغيرات في القوام نتيجة لتحليل شبكة البروتين وارتفاع الـ pH حيث يتحلل البروتين إلى ببتيدات كبيرة الحجم ثم إلى ببتيدات صغيرة الحجم ثم إلى أحماض أمينية والتي تتحول إلى أمينات أو إلى ألدهيدات وكحولات تتحول إلى أمونيا، أو

تتحول الأحماض الأمينية إلى مركبات كبريتية وهناك أنواع كثيرة من الميكروبات تعتبر مسئولة عن تحلل البروتين أثناء تسوية الجبن.

٤-الدهن

يحدث له تحلل بفعل إنزيمات الليبيز والتي مصدرها اللبن والكائنات الحية الدقيقة ولكن بدرجة تحلل أقل من التحلل الذي يحدث للبروتين ويزداد هذا التحلل في الجبن الطرية خاصة التي تسوى بالفطر وينتج عن التحلل المائى للدهن أحماض دهنية طيارة تلعب دورا مهما في إظهار نكهات الجبن حيث تتحول الجلسريدات الثلاثية إلى أحماض دهنية والتي تتحول إلى مثيل كيتون بالإضافة إلى كحولات واسترات وكيتونات وتلعب الأحماض الدهنية الحرة قصيرة ومتوسطة السلسلة الكربونية دورا هاماً في إظهار نكهة الجبن وتكوين الميثيل كيتون من الأمور الهامة في ظهور تلك الأطعمة المميزة للجبن المسوى بالفطر وليس هو المكون الوحيد المسئول عن طعم هذا الجبن ولكن يحتوى الجبن على تركيزات محسوسة من الكحولات الثانوية.

٥-السترات

حيث يلاحظ أن التركيز المنخفض نسبيا للسترات في اللبن لا يعطى صورة حقيقية حول أهمية تمثيل السترات في العديد من أنواع الجبن التي تصنع باستخدام بادئات تخمر السترات مع إنتاج ثنائى الأسيتيل وثاني أكسيد الكربون مثل السلالات التي تتبع جنس *Leuconostoc* إلا أن تخمر السترات يساهم في إظهار الأطعمة المميزة لبعض أنواع من الجبن.

٦-ملح الطعام

لا يحدث له تغير يذكر سوى زيادة في التركيز نتيجة لتبخير جزء من الرطوبة أثناء التسوية.

تلوث الجبن بالميكروبات

١-التلوث بالفطريات

وهو من أكثر العيوب الشائعة في كل أصناف الجبن وتسبب تلف للجبن عن طريق نمو الفطريات على السطح مما يعطى مظهر غير مرغوب كما يصاحب ذلك طعوم ورائحة عفنة وأطعمة أخرى غير مرغوبة.

كما أن الفطر قد يفرز سموما فطرية لها تأثير ضار بالصحة وتسبب بعض الأمراض ومن أهم الأجناس الفطرية التي تسبب عيوب للجبن هي *Mucor, Aspergillus, Penicillium, Alternaria* وغيرها من الأجناس التي تصل إلى الجبن وتسبب تلفه حيث أن هناك بعض الفطريات التي تنمو وتكون بقع حمراء كما أن نمو بعض من سلالات جنس *Penicillium* في الجبن المسوى بالفطر يؤثر على نمو الفطريات المسئولة عن تسوية هذه الجبن ويمنع نموها.

ولتلافي حدوث هذا العيب يمكن إتباع الأتى:

أ- العناية بنظافة وتعقيم الأدوات والأجهزة المستخدمة في الصناعة وحجرات التسوية.

ب-الابتعاد بقدر الإمكان عن استخدام الأرفف الخشبية في صناعة وتسوية الجبن وضرورة نعومة الأرفف حتى يسهل تنظفيها.

ج-طلاء غرف التسوية بمواد مضادة لنمو الفطريات.

د-غمر ورق التغليف الخاص بالجبن في محلول من المواد الكيميائية المضادة للفطريات(سوربات الصوديوم أو سوربات البوتاسييوم) لتقليل هذا العيب.

٢-تكوين الغازات

قد ينشأ هذا العيب في الجبن أثناء التصنيع أو أثناء التسوية معتمدا على أعداد وأنوع الميكروبات المسببة للغازات ويتوقف وقت ظهور هذا العيب على هذه الأعداد والأنواع من الميكروبات.

ومن أهم أنواع الميكروبات المسببة لهذا العيب هي بكتريا القولون التي تسبب انتفاخات مبكرة في الجبن ويختلف وقت ظهور هذه الغازات بمقدار التلوث

الناتج من بكتريا القولون فإذا كان التلوث شديد للبن المستخدم ولم تتم بسترته فإن الغازات تظهر أثناء عملية السمط وتتسبب في طفو الخثرة على سطح الشرش وفى حالة الجبن الطرية قد يحدث هذا العيب في حوض التجبن أو أثناء تصفيه الشرش، وقد يظهر هذا العيب أيضا بعد ٢ – ٥ أيام من التصنيع بسبب التلوث بنفس الميكروبات خاصة عند استخدام بادئ غير نشط في التصنيع حيث يؤدى إلى بقاء كمية كبيرة من اللاكتوز في الجبن تساهم في نشاط بكتريا القولون وتسبب تكوين غازات بعد أسبوع من التصنيع.

كما يسبب أيضاً عيب الغاز المبكر بعض أنواع من الخمائر المخمرة للاكتوز والتي تتبع جنس *Saccharomyces* كذلك بعض أنواع البكتريا المتجرثمة من جنس *Bacillus* التي تسبب الثقوب الغازية

وقد لا يحدث عيب تكوين الغازات بالجبن إلا بعد عدة أسابيع من تصنيعها وفى هذه الحالة يسمى عيب الغاز المتأخر ويكون ذلك بسبب نمو بعض السلالات التابعة لجنس *Clostridium* وفى هذه الحالات يتكون داخل الجبن كميات وفيرة من الغاز وقد تؤدى في بعض الحالات الشديدة إلى انفجار أقراص الجبن الجاف كما يصاحب نمو ميكروبات هذا الجنس رائحة تعفنية كريهة.

ولتلافي هذا العيب يجب إتباع الأتى:

أ- العناية بنظافة وتعقيم الأدوات.

ب-بسترة اللبن للقضاء على بكتريا القولون والخمائر.

ج-استخدام بادئات نشطة لإيقاف نشاط البكتريا المتجرثمة.

د-استخدام سلالات من ميكروب *Lac. lactis* ss *lactis* التي تنتج المضاد الحيوى النيسين Nisin والمعروف فاعليته ضد ميكروبات جنس *Clostridium*.

هـ-العناية بتمليح الجبن لما للملح من تأثير مثبط لكثير من الميكروبات المسببة لهذا العيب.

٣-تعفن السطح

ينشأ هذا العيب عن تجمع الرطوبة على سطح الجبن الجاف والذي يؤدى إلى نمو غشاء رقيق من الخمائر والفطريات والميكروبات المحللة للبروتين وأن نمو هذه

الكائنات على السطح يؤدى إلى تطرية الجبن بالإضافة إلى ظهور ألوان غير مرغوب فيها بالجبن، وقد ينشأ أحياناً ظهور روائح غير مرغوبة فيها بالجبن ويمكن منع حدوث هذا العيب بالمحافظة على سطح الجبن جافاً تماماً وكذا بتغير وضع أقراص الجبن في غرف التسوية من وقت لأخر.

٤-عيوب الطعم

تحدث عيوب الطعم في الجبن نتيجة لنمو بعض الميكروبات المسببة لعيوب الطعم المختلفة وقد سبق التحدث عن أهم الميكروبات المسببة للطعوم غير المرغوبة وخاصة الطعم المر والزنخ والخمائرى وقد تحدث عيب ظهور هذه الطعوم غير المرغوبة نتيجة امتصاص اللبن بعض الروائح من مخلفات الإسطبل وغيرها مما قد يوجد بالمزارع.

٥-عيوب اللون

تنتج الألوان على سطح الجبن لنمو الميكروبات التي تنتج الألوان على سطح الجبن مثل الفطريات والتي تكون بقع خضراء أو حمراء أو سوداء أو تكون بقع صدأية في الجبن التشدر وقد يرجع سببها إلى ميكروب *L. plantarum* والتي تصل إلى الجبن من أيدى العاملين الغير نظيفة والأوعية الغير نظيفة وكذلك البقع الملونة في الجبن السويسرى والتي يرجع سببها إلى سلالات من جنس *Propionibacterium*.

٦-عيوب القوام والتركيب

عندما يتلوث الجبن بالميكروبات المسببة لتحلل البروتين فإنه يحدث تغير في قوام الجبن ويأخذ شكل غير مرغوب فيه مثل التلوث بالفطريات أو الخمائر المحللة للبروتين فإنها تجعل قوام الجبن الجاف طرياً ويساعد ذلك البكتريا المحللة للبروتين عند وجودها في الجبن خاصة من النوع *Micrococcus* فإنها تغير من خواص الجبن وتجعله غير مرغوب كذلك البكتريا المنتجة للغازات فإنها تكون غاز ثانى أكسيد الكربون بكميات وفيرة داخل الجبن مما يغير من تركيبة وتجعل قوامة إسفنجي.

٧-العيوب الخاصة بالجبن المسواه بالفطر

يظهر العديد من العيوب فى الجبن المسواه بالفطر ومنها:

أ- عدم النمو الجيد للفطر ويرجع ذلك إلى عدم إضافته بالكميات المناسبة أو أن الفطر لم ينمو جيدا لعدم مناسبة قوام وتركيب الجبن لذلك.

ب-النمو الزائد للفطر حيث يؤدى إلى تكوين جبن ردىء الطعم ويكون ذو قوام عجينى ويكون المظهر غير مقبول.

ج-النمو السطحي حيث قد ينمو على سطح الجبن المسوى بالفطر بعض أنواع الميكروبات والفطريات الأخرى تكون ما يعرف بالطبقة الهلامية وهذه غير مقبولة كما قد تنمو الخمائر على سطح الجبن المسوى بالفطر وتسبب تغير في لون الجبن ولذلك يجب معاملة سطح الجبن بمواد مضادة للخميرة.

د-كما قد تظهر الأطعمة المرة نتيجة نمو الفطريات بغزارة فتتكون الببتيدات غير المحبة للماء ذات الأطعمة المرة.

الفصل السابع

ميكروبيولوجيا الأغذية

تحتوى الأغذية من مصادرها الطبيعية على بعض الميكروبات كما أنها تتعرض للتلوث أثناء التداول فيزداد محتواها الميكروبى وتنمو وتتكاثر الميكروبات بالغذاء الذى يعتبر بيئة غذائية لها فتسبب تحلل الأغذية وفسادها كما تنتقل الميكروبات المرضية عن طريق الأغذية فتسبب أمراض للمستهلك أو تفرز سموماً تسبب تسممات غذائية، وترتبط الميكروبات بطرق متعددة بالأغذية التى نتداولها مسببة لها تغيرات قد تكون مفيدة وقد تكون غير مرغوب فيها فتؤثر بذلك على نوعية الغذاء ومدى الاستفادة منه.

والضرر الصحى يكون سببه ملائمة الأغذية لنمو الميكروبات المرضية وتكاثرها فيها مثل بكتريا السل والتيفود والكوليرا وغيرها من البكتريا والفطريات التى تسبب المرض والتسمم للإنسان، والكائنات الدقيقة التى لها علاقة بالأغذية ولها دور مفيد أو ضار تشمل البكتريا والفطريات والخمائر.

وعلى الجانب الأخر تستعمل الميكروبات فى إعداد وتجهيز بعض الأغذية كالخبز وفى صناعة المنتجات اللبنية كالجبن والألبان المتخمرة وفى إنتاج المخللات والمشروبات الكحولية وفى إنتاج البروتين الميكروبى والفيتامينات والإنزيمات.

الأجناس الميكروبية الأكثر انتشاراً فى الأغذية

١-البكتريا Bacteria

وجد أن ما يقرب من ٢٥ جنساً تسبب فساد للغذاء أو تسمم عن طريق الغذاء أو مهمة فى تصنيع منتجات جديدة وجيدة وهى:

Acetobacter, Halobacterium, Pseudomonas, Flavobacterium, Achromobacter, Alcaligenes, Escherichia, Aerobacter, Erwinia, Serratia, Proteus, Salmonella, Shigella, Micrococcus, Staphylococcus, Lactococcus, Pediococcus, Leuconostoc,

Lactobacillus, Bacillus, Clostridium, Propionibacterium, Mycobacterium, Corynebacterium **and** ***Brevibacterium.***

٢-فطريات الأعفان Moulds

وجد أنه يوجد ما يقرب من ١٥ جنساً من الفطريات غالباً ما تكون موجودة بالغذاء وهى:

Alternaria, Aspergillus, Botrytis, Cephalosporium, Fusarium, Geotrichum, Gleosporium, Helminthosporium, Monilia, Mucor, Penicillium, Rhizopus, Sporotrichum, Thamnidium **and** ***Trichothecium.***

٣-الخمائر Yeasts

يوجد بالغذاء عادة ٩ أجناس من الخمائر هى:

Brettanomyces, Debaromyces, Mycoderma, Saccharomyces, Candida, Hansenula, Rhodotorula, Schizosaccharomyces **and** ***Torula.***

وفيما يلى شرح مفصل لكل قسم من الكائنات الحية الدقيقة سابقة الذكر:

أولاً: البكتريا Bacteria

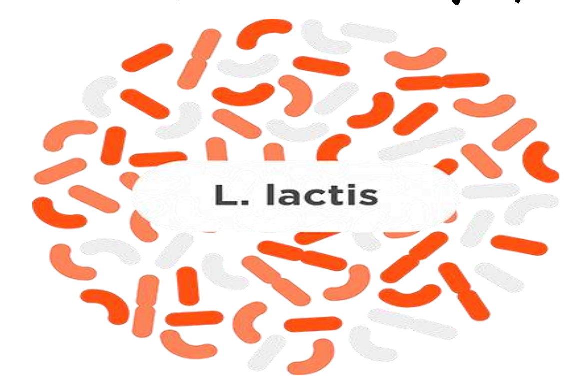
تعتبر البكتريا من اكبر المجاميع الميكروبية المنتشرة فى الأغذية حيث تنمو وتتكاثر وتحلل مكونات الغذاء من بروتين ودهون وسكريات إلى مركبات ضارة وغير مقبولة للمستهلك لأنها تنتشر فى الأغذية بصورة كبيرة عن أى ميكروبات أخرى أو عندما تنمو فى الغذاء قد تتكون مركبات مفيدة تعطى نكهة جيدة للمادة الغذائية وقد يتلوث الغذاء ببكتريا مرضية تسبب مرض للإنسان المتناول لهذا الغذاء.

أنواع البكتريا الهامة فى الأغذية

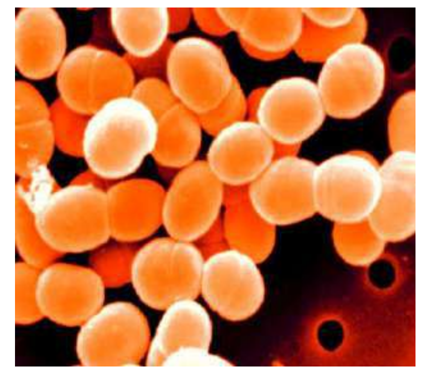
١) بكتريا حمض اللاكتيك Lactic acid bacteria

تتواجد هذه البكتريا فى اللبن ومنتجاته والمخللات واللحوم والخضر والفواكه والعصائر وفى فم وأمعاء الإنسان وهى تخمر سكر اللاكتوز بطريقتين الأولى هى التخمر المتجانس وفيه يتحول ٩٠٪ من السكر إلى حمض لاكتيك أو التخمر غير

المتجانس وفيه يتحول ٥٠٪ فقط من السكر إلى حمض لاكتيك، ومن أهم الأجناس التابعة لها *Lactococcus, Lactobacillus*.



Lactobacillus lactis



Lactococcus sp.

شكل(٧-١): بكتريا حمض اللاكتيك

٢) البكتريا المعوية **Intestinal bacteria**

تلوث أفراد هذه البكتريا الأغذية وتسبب فسادها وبعضها يسبب المرض للمستهلك كما أنها تستعمل للدلالة على تلوث المياه والأغذية بمياه المجارى ، ومن أهم المجاميع التابعة لها مجموعة بكتريا القولون **Coliform group** وهى البكتريا الموجودة أساساً فى أمعاء الإنسان والحيوان.

٣) البكتريا المنتجة للزوجة **Slime or ruby producing bacteria**

ومنها بكتريا *Enterobacter aerogenes* والتى تسبب لزوجة اللبن ويطلق عليه الحليب الخيطى **ruby milk** وأيضا بكتريا *Leuconostoc* sp. والتى تسبب لزوجة المحاليل السكرية.

٤) البكتريا المنتجة للغاز **Gas forming bacteria**

تنتج الكثير من البكتريا كميات قليلة من الغازات بحيث يكون إنتاجه بطيئاً وفى معظم الأحيان لا يمكن ملاحظته وفى أحوال أخرى فإن الغاز يكون ظاهرا بين الأجناس التى تنتج الغاز خلال النمو فمنها أجناس تنتج ثانى أكسيد الكربون وأجناس تنتج ثانى أكسيد الكربون والهيدروجين وهناك أنواع تنتج الطعم المر وأخرى تسبب الفسفرة.

٥) البكتريا المحبة للضغط الأسموزي المرتفع **Osmophillic bacteria**

وهـى التـى تنمـو فـى تركيـزات عاليـة مـن السـكر مثـل أنـواع جـنس *Leuconostoc* والتـى تسبب مشاكل كبيرة فـى عصير السكروز حيث تكون مواد صمغية لزجة تعوق صناعة السكر.

٦) بكتريا التسمم الغذائى **Food poisoning bacteria**

منهـا مـا يسبب حالـة التسمم نتيجـة تنـاول الإنسـان لغذاء بـه بكتريـا هوائيـة مثـل *Staphylococcus aureus* أو بكتريـا لاهوائيـة مثـل *Clostridium botulinum* ، ومنهـا مـا يكون نفسـه مصدرا للعدوى مثل بعض أنـواع جنسى *Lactococcus* , *Salmonella* التى لها القدرة على النمو فى الأغذية وتسبب تسمم للإنسان نتيجة تناول الميكروب مع الغذاء.

ثانياً: فطريات الأعفان Moulds

الفطريـات تنمـو علـى الطعام وتعرف بمظهرها الزغبى أو الـوبرى أو القطنـى ويبدو النمو الفطرى غالباً ملون بلون داكن واللون ينتج من تكون الجراثيم الملونـة وظهورها على السطح الذى ينمو عليه الفطر، وعادة الغذاء الملوث بالعفن يكون غيـر صـالح للأكـل، وعلـى الـرغم مـن أن الفطريـات تسـبب تلـف كثيـر مـن الأطعمـة والأغذية إلا أن هناك أنواعا منها ماهو مفيد فى تصنيع بعض أنواع من الأطعمة أو كمكون من مكونات هذه الأطعمة ومثال ذلك بعض أصناف الجبن التى يقوم الفطر فيهـا بعمليـة التسـوية مثـل جـبن الركفـورت والكممبـرت **Requefort and Camembert**.

وقـد تسـتخدم بعـض أنـواع الفطريـات فـى عمـل أو صـناعة بعـض الأطعمـة الشرقية مثل صلصة الصويا، والفطريات قد تستخدم أيضاً لإنتاج مواد تستخدم فى الأطعمة مثل إنزيم الأميليز وحمض الستريك، وقد تستخدم الفطريات نفسها كطعام مثل الأصناف غير السامة من عيش الغراب، هذا وتنتج بعض الفطريات مضادات حيوية يستفيد منها الإنسان فى مقاومة الكثير من الأمراض.

أهم الأجناس الفطرية ذات الأهمية فى صناعة الأغذية

١-جنس *Mucor*

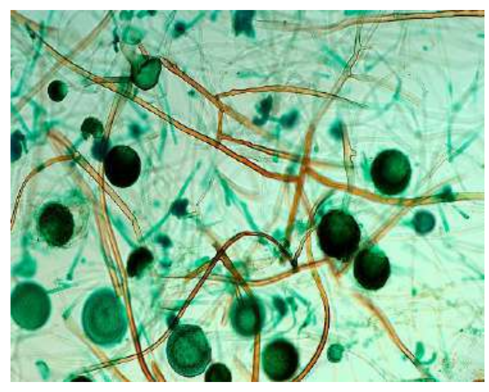
يفيد فى صناعة بعض أنواع الأغذية ويكون نموا زغبياً ابيض كثيفا على الأغذية ثم يتبقع هذا النمو باللون الأسود وأهم أنواعه *M. roxii, M. rasemosus* ويستخدمان فى تحويل النشا إلى سكريات بسيطة وذلك بواسطة الإنزيمات التى تفرزها ،كما يستخدم النوع *M.roxii* فى إنضاج جبن جاميلوست Gamelost.

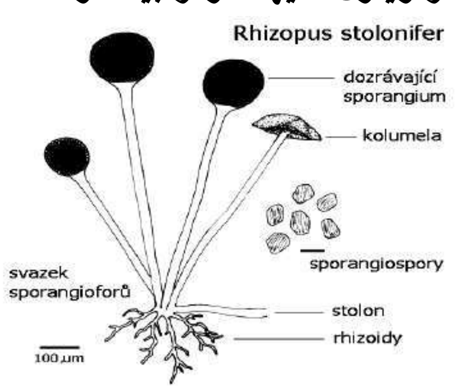


شكل (٧-٢): فطر *Mucor* sp

٢-جنس *Rhizopus*

يتميز هذا الجنس بأن جراثيمه تكون داخل حافظة جرثومية Sporangium وعند النضج يتحول لونها إلى الأسود، وأهم أنواعه *R.stolonifer* وهو المسبب لعفن الخبز الأسود Black mold كما انه ينمو على كثير من الأغذية كالفواكه والخضر ويكون عليها نمواً زغبياً أسود.



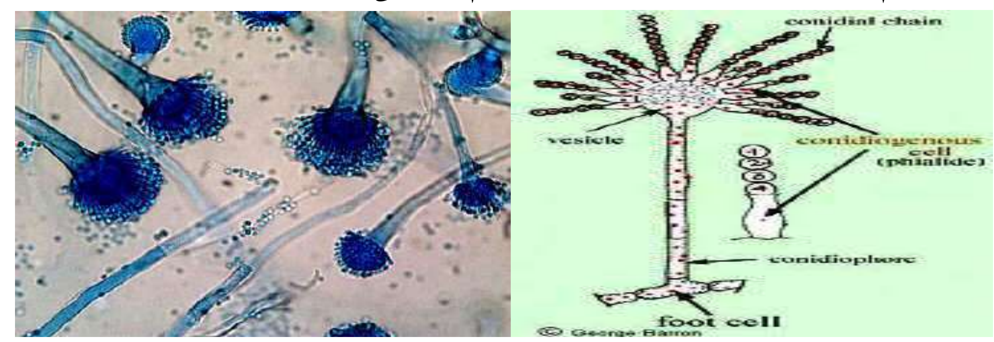


شكل (٧-٣): فطر *R. stolonifer*

٣-جنس *Aspergillus*

أفراد هذا الجنس تسبب فساد كثير من الأغذية كما أن بعض سلالاته تستخدم فى الصناعة لإنتاج بعض الأحماض والإنزيمات واهم أنواعه:

- ***A. niger* : يكون نموات سوداء اللون على الأغذية ويفسد الأغذية الطازجة والمبردة ويستخدم فى إنتاج حمض الستريك.**
- ***A. flavus* : تنمو فى الأغذية وتكون سموماً فطرية Mycotoxins مثل سموم Alfatoxins حيث تسبب التسمم الغذائى.**



شكل (٧-٤): فطر *Aspergillus* sp.

٤-جنس *Penicillium*

هذا الجنس منتشر بكثرة فى الأغذية وأهم أنواعه:

- ***P. italicum* : يسبب تعفن البرتقال ولون نموه أزرق.**
- ***P. digitatum* : يسبب فساد الطماطم والفواكه الطرية ونموه لونه زيتى.**
- ***P. notatum* : يستخدم لإنتاج البنسلين وينمو على الأغذية.**
- ***P. roqueforti* : يستخدم فى تصنيع الجبن الركفورت.**



شكل (٧-٥): فطر *Penicillium* sp.

ثالثاً: الخمائر Yeasts

الخمائر عبارة عن فطريات وحيدة الخلية لا تكون هيفات بيضاوية أو كروية الشكل تحتوى على نواة، والخمائر قد تكون مفيدة فى الأغذية فهى تستخدم فى صناعة الخبر والبيرة والنبيذ والخل وإنتاج بعض أنواع الجبن والفيتامينات والدهون وفى إنتاج البروتين من مخلفات الصناعات الغذائية ومن منتجات النفط، وتكون الخمائر ضارة عندما تنمو وتسبب فسادا لعصائر الفاكهة والعسل والمربات واللحوم والألبان ومنتجاتها، ومن حيث علاقة الخمائر بالأكسجين فإنه يوجد نوعان هما:

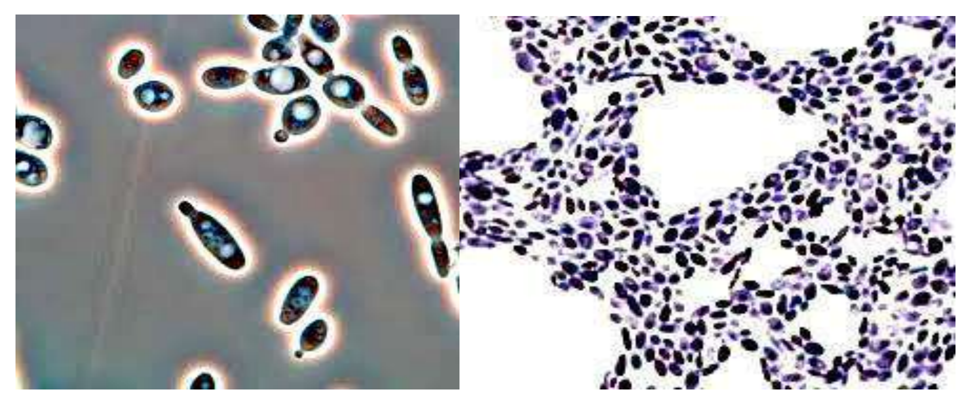
١-أنواع هوائية: وهى التى تنمو وتتكاثر فى وجود الأكسجين ويطلق عليها اسم الخمائر الغشائية أو الخمائر السطحية وتنمو على السكريات والكحولات وتنتج ثانى أكسيد الكربون حيث تغير المادة الغذائية من ناحية الطعم والرائحة والشكل.

٢- أنواع لاهوائية: وهى التى تنمو وتتكاثر فى عدم وجود الأكسجين ويطلق عليها خمائر القاع أو الخمائر المخمرة وهى ذات أهمية كبيرة فى صناعة الخبز والإنتاج الصناعى لكحول الإيثيل، ويمكن لخلايا الخميرة أن تعيش فى تركيزات عالية من الأملاح والسكر وأعلى تركيز من السكر يمكن لخلايا الخميرة أن تنمو عليه وتتكاثر هو ما بين ٥٠-٥٥٪.

الخمائر الهامة فى الأغذية Important yeast in foods

١- جنس ***Saccharomyces***: يعتبر هذا الجنس من أهم الخمائر خاصة فى الصناعات الغذائية ومن أهم أنواعها ***S. cerevisiae*** الذى يستخدم فى صناعة الخبز.

٢- جنس ***Candida***: تكون أغشية على الأغذية الحمضية والمخللات وبعض أنواع هذا الجنس تحلل الدهون لذلك تستخدم فى إنضاج الجبن مثل الجبن الأزرق.



شكل (٧-٦): *C. lipolytica* *S. cerevisiae*

الميكروبات الأخرى الموجودة فى الأغذية

بالإضافة إلى البكتريا والفطريات والخمائر هناك ميكروبات أخرى تتواجد فى الأغذية وتسبب المرض للمستهلكين منها الريكتسيا والفيروسات والطفيليات ، من أهم أنواع الريكتسيا هى *Coxiella burnetii* الذى ينتقل من الأبقار المصابة إلى اللبن ويقاوم البسترة ويسبب مرض حمى كيو **Q–fever** للإنسان.

وبالنسبة للفيروسات فكثير من الأغذية تتلوث بها ثم تنتقل إلى الإنسان وتصيبه بمختلف الأمراض خاصة فيروس التهاب الكبد الوبائى **Hepatitis A** وفيروس شلل الأطفال **Poliomyelitis** وغيرها علما بان كثيرا من الأبحاث تشير إلى أن عمليات حفظ الأغذية كالتبريد والتجميد لا تقضى على هذه الفيروسات. ويوجد فيروسات تصيب البكتريا يطلق عليها لاقمات البكتريا **Bacteriophages** تهاجم البكتريا المستخدمة فى الصناعات الغذائية وتقضى عليها خاصة بكتريا حمض اللاكتيك.

ومن أهم مشاكل صناعة الألبان هى إصابة بادئات الألبان بهذه اللاقمات حيث يصبح البادئ رديئا وبدوره يؤثر على المنتج كله وهى تقاوم درجات حرارة البسترة ويوجد فيروسات تهاجم بكتريا إنتاج الخل وتعطل إنتاجه، كما أن كثير من الطفيليات تلوث الأغذية مثل الديدان الثعبانية وديدان الأبقار وديدان الخنازير والأنواع التى تسبب الدوسنتاريا.

تلوث الأغذية Foods contamination

تتعرض الأغذية للتلوث من مصادر عديدة قد تكون مصادر طبيعية كالحقل والهواء والمياه والحيوانات ومخلفات المجارى أو أثناء التداول والنقل ومعاملات التصنيع وعلى ذلك فإن أنواع وأعداد الميكروبات الموجودة بالمادة الغذائية يحدد قابلية المادة الغذائية للحفظ ومدى ونوع وسرعة الفساد الذى تتعرض له ونوع المعاملة المطلوبة لحفظها.

المحتوى الميكروبى للأغذية الطازجة Microbial flora of fresh foods

تعتبر الأنسجة الداخلية للنباتات والحيوانات السليمة خالية من الكائنات المجهرية ومع ذلك فإننا نجد أن الأسطح الخارجية للخضر والفاكهة واللحوم والأسماك وغيرها ملوثة بميكروبات عديدة، ومقدار هذا التلوث الميكروبى هو انعكاس لعوامل عديدة منها:

- الميكروبات الموجودة فى الوسط الذى أخذ منه الغذاء.
- حالة الغذاء الخام.
- طريقة التداول.
- مدة وظروف التخزين.

ووجود أعداد كبيرة من الميكروبات بالغذاء الطازج يعنى أن تغيرات غير مرغوب فيها حدثت بالغذاء وأن الغذاء أصبح قابلا للتلف لذلك فإنه من الضرورى أن نقلل بقدر الإمكان من حدوث التلوث الميكروبى بالأغذية الطازجة، وسوف نوضح فيما يلى طرق تلوث بعض الأغذية الهامة:

الخضروات والفواكه Vegetables and fruits

تتعرض الخضروات والفواكه للتلوث بالبكتريا والفطريات والفيروسات ويتوقف مدى الفساد على مدى إصابة الأنسجة الداخلية بالميكروبات ويحدث ذلك أثناء نمو النبات بالحقل أو أثناء الحصاد اليدوى أو الألى أو التداول التى تسبب جروح وتمزق للأنسجة مما يسهل غزو الميكروبات من السطح الخارجى إلى الأنسجة الداخلية، يتراوح الرقم الأيدروجينى pH للخضر من ٥ إلى ٧ ، لذلك فهى أكثر ملائمة للإصابة

بالبكتريا عن الفواكه وهى ذات حموضة أعلى من الخضر ويتراوح رقمها الأيدروجينى ما بين ٢ – ٣ بالموالح إلى ٥ فى الموز، فإنها تكون أكثر تعرضاً للإصابة بالفطريات.

اللحـــــوم Meat

تتعرض الأنسجة الداخلية للحوم الطازجة للتلوث من السطوح وأثناء النقل والتداول كما يحدث التلوث أثناء نزع الأحشاء الداخلية والأمعاء الغنية بالميكروبات. ويناسب تركيب اللحوم نمو البكتريا ومن مجاميع البكتريا الشائع وجودها باللحوم الطازجة: *Pseudomonas, Staphylococci, Enterobacter,* **Coliforms** ، كما أن حفظ اللحوم الطازجة على درجات الحرارة المنخفضة يشجع نمو البكتريا المحبة للبرودة. تتلوث أنسجة الدواجن الداخلية من السطح الخارجى أثناء الذبح ونزع الريش وإزالة الأحشاء وتعتبر السيدومونادات أكثر الميكروبات تواجداً على جلد الدواجن الطازجة المذبوحة حديثاً وذلك لأن الدواجن تغسل بالماء بعد الذبح مباشرة وبالتالى تنتقل لها البكتريا من الماء لأن هذا الجنس من البكتريا من ساكنات المياه.

الأسماك والأغذية البحرية Marine and fish foods

الطبقة اللزجة الخارجية للأحياء البحرية غنية بالميكروبات الموجودة بالوسط المائى الذى تعيش فيه وتنتقل هذه الميكروبات إلى الأنسجة الداخلية أثناء التنظيف ونزع الأحشاء الداخلية، وتزداد حدة التلوث إذا كانت المياه التى تعيش فيها تلك الأحياء ملوثة بمخلفات المجارى وفى هذه الحالة فإن الأغذية البحرية تكون وسيلة لنقل الميكروبات المرضية كالبكتريا التى تسبب الاضطرابات المعوية والفيروسات التى تسبب الالتهاب الكبدى الوبائى وشلل الأطفال.

البيـــــض Eggs

المحتويات الداخلية للبيض السليم الطازج عادة خالية من الميكروبات وتدخل الميكروبات كالبكتريا والفطر إلى داخل البيضة من خلال القشرة التى تحدث أثناء

التداول والنقل والتخزين أو تدخل الميكروبات من الثقوب الموجودة بالقشرة الكلسية التى تتفتح بسبب بلل البيض أو غسيله بالماء.

مصادر تلوث الأغذية بواسطة الميكروبات

Sources of foods contamination via microorganisms

من المعروف أن الأحياء الدقيقة لا تتوالد ذاتيا إذ أنه لابد أن تكون قد لوثت الغذاء أثناء إنتاجه، تصنيعه، تخزينه، توزيعه، أو إعداده للاستهلاك ، وبالتالي فإن الأحياء الدقيقة المتواجدة على أو في غذاء معين هي محصلة الأحياء الدقيقة المصاحبة للمادة الخام وتلك الإحياء الدقيقة المكتسبة أثناء تداوله وتجهيزه والأحياء الدقيقة التي أمكنها أن تنمو بعد أي معاملة حفظ وتخزين لهذا الغذاء ، وسوف نوضح فيما يلي أهم مصادر تلوث الأغذية بالميكروبات:

أولاً: تلوث الغذاء من المصادر الطبيعية

١-تلوث الأغذية بالميكروبات عن طريق التربة

Foods contamination with microorganisms via soil

التربة هي المصدر الأساسي والطبيعي لكثير من الكائنات الحية الدقيقة التي تتواجد بكميات كبيرة بها، حيث نجد أن عدد الأحياء الدقيقة يكون كبير عند سطح التربة ثم يتناقص بزيادة عمق التربة.

ومن أهم البكتريا التى تلوث الغذاء عن طريق التربة ما يلى:

Bacillus , Pseudomonas and Micrococcus.

وتتلوث المحاصيل الدرنية والجذرية بالأحياء الدقيقة نتيجة الملامسة المباشرة للتربة أو بواسطة الهواء أو غسل الأتربة بواسطة الماء بعد سقوط الأمطار فإنه يحدث تلوث لبعض المحاصيل التى تنمو قريبا من سطح التربة مثل الفراولة والفول والكرنب والبسلة ، ولا شك أن نوع وعدد الميكروبات المتواجدة علي سطح المحاصيل يتأثران بدرجة تلوث التربة التي تنمو فيها هذه المحاصيل.

٢-تلوث الأغذية بالميكروبات بواسطة النباتات

Foods contamination with microorganisms via plants

النباتات يوجد على سطحها طبيعياً ميكروبات تختلف أعدادها وأنواعها من نبات لأخر وبصورة عامة هناك بعض أجناس البكتريا تتواجد عادة على أسطح النباتات مثل *Pseudomonas, Micrococcus, Achromobacter* ، كما تتواجد أيضاً بكتريا القولون وبكتريا أخرى يكون مصدرها التربة والأسمدة مثل *Clostridium, Bacillus*، كذلك يوجد بكتريا مصدرها الماء والهواء أو أى مصادر تلوث النبات نفسه.

٣-تلوث الأغذية بالميكروبات عن طريق المياه

Foods contamination with microorganisms via water

يلامس الماء الغذاء أثناء إنتاجه وحصاده وتصنيعه وبالتالى يحدث تلوث لهذه الأغذية وفيما يلى بعض الأمثلة:

أ-استخدام ماء ملوث أو مياه المجارى غير المعالجة فى الرى يؤدى إلي تلوث الخضروات والفاكهة بميكروبات ممرضة وهذا يشكل خطورة على الصحة العامة.

ب-استخدام مياه ملوثة فى غسيل الخضروات والفاكهة قد يؤدى لانتقال الميكروبات الممرضة للغذاء ثم للإنسان.

ج-إذا كانت المياه المخصصة لشرب الحيوانات ملوثة بميكروبات ممرضة فإنها قد تصبح خطرة صحياً على الإنسان الذى يتعامل مع الحيوان وقد يؤدى أيضاً لحدوث تلوث للذبيحة بعد ذبح الحيوان.

د-استخدام الثلج فى تبريد بعض الأغذية (الأسماك مثلا) حيث يحدث انتقال الأحياء الدقيقة من الثلج إلي المواد الغذائية.

هـ- يستخدم الماء فى تصنيع الأغذية وبالتالى قد يصبح مصدر لتلوث الأغذية بالأحياء الدقيقة حيث يدخل الماء فى كثير من الخطوات التحضيرية لمعظم الأغذية.

٤-تلوث الأغذية بالميكروبات عن طريق الهواء

Foods contamination with microorganisms via air

تظل الأغذية معرضة للتلوث من الهواء حتى تعبأ فى عبوات مغلقة ، ونجد أنه لا توجد للهواء فلورا ميكروبية طبيعية خاصة به ولكنه يكتسبها من مصادر متعددة وبصفة عامة نجد أن الجراثيم التابعة للأجناس *Penicillium, Fusarium, Aspergillus* تسود فى الهواء بالمقارنة بباقي الأحياء الدقيقة، ولقد وجد أن النباتات المتعفنة بالقرب من سطح الأرض هي أهم مصادر الأحياء الدقيقة الموجودة في الهواء، حيث تقوم الرياح بنقل هذه الجراثيم، وتوجد اختلافات كبيرة في عدد وأنواع الميكروبات الموجودة بالهواء فى المناطق المختلفة فى مصانع الأغذية، ففى المناطق النظيفة يوجد عدد قليل من الأحياء الدقيقة فى الهواء بينما فى المناطق التى يتم فيها تداول الحيوانات الحية أو مناطق استلام المواد الخام فإن الحمل الميكروبى للهواء يكون عالياً ، لذا ينصح دائماً بأن تكون حركة الهواء داخل المصنع من المناطق النظيفة إلي المناطق غير النظيفة.

٥-تلوث الأغذية بالميكروبات عن طريق الإنسان

Foods contamination with microorganisms via human

يعتبر الإنسان مصدرا هاما لتلوث الأغذية وذلك خلال تداوله لهذه الأغذية حيث توجد الأحياء الدقيقة فى عدة مناطق فى جسم الإنسان أهمها الجلد والشعر والأنف والتجويف الفمى والحلق والقناة الهضمية، ولقد وجدت البكتريا *Staphylococcus aureus* كفلورا طبيعية فى نسبة عالية من الأشخاص العاديين وهى تتواجد على الأيدى والوجه وبصفة خاصة فى تجويف فتحتي الأنف.

ولقد وجد أن كثيرا من الميكروبات الممرضة تنتقل من الإنسان (حامل الميكروب) إلي الغذاء لذا فإن تداول الإنسان للأغذية المعاملة حراريا (المطبوخة أو المبسترة) والتى تحفظ لفترة قصيرة ثم تؤكل دون معاملة حرارية يشكل خطورة على الصحة العامة، ومن أهم الأحياء الدقيقة التى ينقلها الإنسان للغذاء, *Staphylococcus aureus* *Lactococcus* sp.

٦-تلوث الأغذية بالميكروبات عن طريق علائق الحيوان

Foods contamination with microorganisms via animal fodders

تتلوث أقدام وشعر وريش الحيوان بالإحياء الدقيقة الموجودة فى العليقة ، كما أن تناول الحيوان للعليقة يضيف أحياء دقيقه لجهازه الهضمى وإذا احتوت العليقة على أحياء دقيقة ممرضة مثل *Salmonella* فإنها تسبب أمراض للحيوان ومن ثم يحدث تلوث للذبيحة أثناء الذبح.

٧-تلوث الأغذية بالميكروبات بواسطة مياه المجاري

Foods contamination with microorganisms via sewage water

عندما يستخدم روث الحيوان أو مياه المجارى غير المعاملة كمخصبات للتربة فإن ذلك يؤدى إلى تلوث المحاصيل الناتجة بالأحياء الدقيقة خاصة الممرضة بسبب انتقالها من الروث أو مياه المجارى إلي التربة وقد تظل الأحياء الدقيقة حية فى التربة، لفترة تكفى لتلوث المحاصيل الناتجة، وفى حالة الخضروات والفاكهة التي تؤكل طازجة فإن ذلك يصبح مصدر لانتشار الأمراض.

٨-تلوث الأغذية بالميكروبات من الأدوات والمعدات

Foods contamination with microorganisms via apparatus

فى مصانع الأغذية نجد أن الأغذية تتلوث من الأدوات والمعدات أثناء عملية التصنيع وذلك مثل السكاكين والمناشير وألات التقشير والتقطيع والمفارم والسيور الناقلة وألات الملء، لذلك يجب العناية بتنظيف وتطهير هذه الأدوات والمعدات ، كذلك يجب العناية بتنظيف وتطهير الأدوات المستخدمة فى المنازل والمطاعم والمدارس حيث أن معظم حالات انتشار التسمم الغذائى تحدث فى هذه الأماكن.

٩-تلوث الأغذية بالميكروبات عن طريق العبوات

Foods contamination with microorganisms via packages

تعتبر العبوات مصدرا من مصادر التلوث ، فمثلا يحدث تلوث للغذاء من الزجاجات خاصة تلك التي يتم إعادة استخدامها ، كذلك فإن العبوات البلاستيك المستخدمة فى تعبئة الكثير من الأغذية قد تكون مصدرا من مصادر التلوث، لذلك

يجب التأكد من نظافة العبوات والتأكد من عدم تلوثها أثناء تخزينها وعدم استخدامها أكثر من مرة .

ومن الجدير بالذكر أن العبوة تعمل كغطاء واقى للمادة الغذائية وتمنع وصول الأحياء الدقيقة إليها من الوسط الخارجى ولكنها تمنع النمو الميكروبى داخل الغذاء لذا يجب أن يتم تثبيط النمو الميكروبى بطريقة من طرق حفظ الغذاء قبل تعبئة الغذاء فى العبوات.

١٠- تلوث الأغذية بالميكروبات عن طريق الحيوانات

Foods contamination with microorganisms via animals

جميع الميكروبات التى قد تكون موجودة بالتربة والماء وغذاء الحيوان وروثه والغبار قد تكون موجودة على جلد الحيوان ومن جلد الحيوان قد تنتشر مرة أخرى فى الهواء أو على أيدى العمال وملابسهم ثم إلى الطعام وقد تجد هذه الميكروبات طريقها إلى اللحم عن طريق السلخ وهناك كثير من البكتريا المرضية تنتقل من الحيوانات والدواجن إلى الإنسان من خلال لبنها وبيضها والبكتريا التى تتواجد عادة على أسطح الحيوانات وهى:

Pseudomonas, Aerobacter, Staphylococcus, Escherichia, Clostridium, Alcaligenes, Achromobacter.

ثانياً: تلوث الأغذية بالميكروبات أثناء التداول

Foods contamination with microorganisms during currency

المواد الغذائية المختلفة تحمل أعداد من الميكروبات من مصادرها الطبيعية وأثناء جنيها وتجميعها ونقلها وتصنيعها وتسويقها تضاف أعداد أخرى من الميكروبات التى قد تسبب فسادها أو تجلب المرض للمستهلكين، فالأغذية النباتية كالحبوب والخضر والفواكه تتلوث من قبل العمال والسلال والصناديق التى توضع فيها ومن عربات النقل والأدوات التى تستعمل فى تصنيعها ولهذا يجب إجراء بعض المعاملات للتقليل من هذا التلوث كالتبريد أثناء النقل والغسيل بمحاليل مطهرة وفرز الأجزاء التالفة والفاسدة والتخلص منها، كما يجب عدم تعرض الأغذية للتلف

الميكانيكى الذى يزيد احتمال دخول الأحياء المجهرية إليها وإفسادها، وفى المصنع فإن السكاكين والمناضد والماء المستخدم لغسيل الأغذية والأكياس والعاملين تعتبر مصادر للتلوث ، أما فى المحلات فإن أدوات الوزن وأرضية المحل وغير ذلك يعتبر مصادر لتلوث الأغذية.

وبالنسبة للأغذية الحيوانية كاللحم فإنه أثناء ذبح الحيوان وتقطيع لحمه فإنه يحدث يتلوث من الجلد والحوافر والأحشاء ومن أيدى العمال والسكاكين وأرضية المجزر وماء غسيل اللحم ، أما بعد الذبح فتكون مصادر التلوث هى عربات النقل والقماش الذى يلف به اللحوم وأيدى الجزار إذا كانت غير نظيفة والسكاكين والميزان وهواء وأرضية المحل وأرمة الخشب الموجودة لتقطيع اللحوم عليها ومفارم اللحم والأكياس.

وبالنسبة للحليب ومنتجات الألبان يكون التلوث بواسطة ألة الحلب أو أيدى الحلابين ومن جلد الحيوانات ومن أرضية الحظيرة وأوعية الحليب وكذلك الحشرات والذباب وهواء الحظيرة ، أما فى المصنع فإن العاملين والأدوات المستخدمة فى التصنيع والمياه الداخلة فى التصنيع هى التى تمثل مصادر للتلوث.

ولغرض الحفاظ على منتجات جيدة وصالحة للاستهلاك يجب إتباع الشروط الصحية الصارمة لمنع تلوث الأغذية من قبل العاملين والأدوات المستخدمة فى التصنيع والنقل والبيع والاعتناء بنظافة المصنع والمخزن ومحلات البيع.

حفظ الأغذية Food preservation

يسعى الإنسان منذ سنوات عديدة لحفظ الأغذية بهدف منع النمو الميكروبى بها وإيقاف حدوث التغيرات غير المرغوبة فيها ليصبح الغذاء أقرب ما يمكن من حالته الطبيعية لاستخدامه فى الأوقات التى يقل فيها أو لنقله إلى مسافات بعيدة لمناطق تحتاج إليه بعيدة عن أماكن إنتاجه. تعتمد كل طرق الحفظ على واحد أو أكثر من الأسس التالية:

١- إبعاد أو منع التلوث Asepsis

٢- تثبيط النمو الميكروبى Microbistatic action

٣- قتل الميكروبات Microbicidal action

يحدد طريقة الحفظ المناسبة نوع الغذاء والظروف الموجود عليها ويستحسن استخدام أكثر من طريقة لحفظ الغذاء الواحد حيث أنه نادراً ما توجد طريقة واحدة تكون مناسبة وكافية من جميع الوجوه.

طرق الحفظ Preservation methods

من الطرق الهامة المستخدمة فى حفظ الأغذية:

١-إبعاد أو منع تلوث الغذاء بالميكروبات أثناء التداول والتصنيع Aseptic handling and processing

تتعرض الأغذية منذ إنتاجها من مصادرها الطبيعية حتى تناولها طازجة أو إعدادها لعمليات التصنيع لمجموعة من عمليات التداول تؤدى إلى زيادة التلوث، وعلى ذلك فإن المحافظة على الغلاف أو القشرة الخارجية للغذاء سليمة وإتباع الأصول الصحية عند غسيل الغذاء وتقطيعه وإعداده للتصنيع وعمليات اللف والتعبئة الجيدة يزيد من فترة حفظ المنتجات الغذائية.

٢- الحرارة المنخفضة Low temperature

الأساس فى هذه الطريقة هو إبطاء النمو والنشاط التمثيلى للميكروبات نتيجة خفض درجة الحرارة إلى الصفر المئوى أو إلى أقل من ذلك، ويتميز الحفظ بالتبريد بأنه يحفظ للغذاء شكله وتركيبه بدرجة أكبر من أي طريقة حفظ أخرى.

والحفظ بهذه الطريقة مؤقت فالحرارة المنخفضة تقلل من نشاط الإنزيمات ومن نمو ونشاط الميكروبات ولكنها لا تقتل الميكروبات وكلما زاد الانخفاض فى درجة الحرارة كلما أبطأت هذه الأنشطة الحيوية، وعند الصفر المئوى يقف تقريباً نمو أغلب الميكروبات ولكن الميكروبات المحبة للبرودة تستطيع أن تستمر فى النمو.

ويوجد ميكروبات تستطيع النمو على درجات حرارة منخفضة وتسبب فساداً للأغذية منها:

١-الفطريات مثل. *Penicillium,Cladosporium,Monilia*.

٢-الخمائر مثل *Torulopsis* .

٣-البكتريا مثل *Pseudomonas,Achromobacter,Alcaligenes*. *Flavobacterium.*

طرق الحفظ بالحرارة المنخفضة

Preservation methods by low temperature

قد يتم حفظ بعض الأغذية فى جو منخفض الحرارة أى أعلى من الصفر المئوى (١٠- ١٥°م) كما يتبع فى حفظ الأغذية الدرنية كالبطاطا والبطاطس وبعض أنواع الفواكه والحفظ بهذه الطريقة يكون لمدة محدودة.

وقد تحفظ بعض الأغذية بالتبريد Chilling أى عند درجة قريبة من الصفر المئوى (٣-٥ °م) باستخدام الثلج أو الثلاجات الكهربائية لحفظ البيض ومنتجات الألبان والفواكه والخضر، ومدة الحفظ بهذه الطريقة محدود أيضاً ولكنها تمتاز عن الحفظ بالتجميد بأنها لا تؤثر كثيراً على تركيب وطعم وطزاجة الغذاء.

من الطرق الواسعة الانتشار الأن الحفظ بالتجميد Freezing وعند درجة حرارة أقل من الصفر المئوى باستخدام المجمدات Freezers، وتستخدم الأن هذه الطريقة بنجاح فى حفظ كثير من الأغذية كالخضراوات والفواكه واللحوم والأسماك.

وتفضل طريقة التجميد السريع للغذاء Quick freezing method عند-٣٢° م أو أقل لمدة أقل من ساعة عن التجميد البطيئ SLow-freezing method

عند حرارة أعلى من -١٨°م ولمدد تصل لعدة ساعات (٣-٧٢ ساعة) لأن البللورات الثلجية المتكونة بالغذاء ستكون صغيرة فى حالة التجميد السريع بالتالى فإن تمزق الأنسجة سيكون أقل عن الأغذية ذات التجميد البطيئ التى يتكون بها بللورات ثلجية كبيرة تؤدى إلى تمزق كثير من الأنسجة فتظهر عند تسييحها أقل نضارة وتكون أسرع فساداً.

وعموماً، فإن الأغذية المجمدة بعد إخراجها من الثلاجة وتسييحها Thawing تفسد بسرعة أكبر من الأغذية الطازجة. لذلك، فإن تقليل التلوث الميكروبى للأغذية قبل تجميدها يعتبر أمراً ضرورياً.

٣- الحرارة المرتفعة High temperature

تؤدى الحرارة المرتفعة إلى قتل الميكروبات بتخثيرها أو إتلافها لإنزيمات وبروتوبلازم الخلايا الميكروبية وهى بذلك تعتبر من الطرق الأمنة فى حفظ الأغذية حيث أنها تؤدى إلى تعقيم الغذاء أو تقليل محتواه الميكروبى مع التخلص من الميكروبات المفسدة والممرضة.

تستعمل طريقة الحفظ بالحرارة المرتفعة فى حفظ الأغذية المعدة بالمنزل وفى الأغذية المبسترة والأغذية المعلبة كالخضراوات والفواكه واللحوم وهى الأغذية المحفوظة فى أوعية محكمة القفل تمنع دخول الميكروبات إلى الغذاء بعد تصنيعه.
ومن المعاملات الحرارية المستخدمة فى حفظ الأغذية.

أ- البسترة Pasteurization

فى هذه المعاملة تستخدم درجة حرارة أقل من ١٠٠°م مدة مناسبة ومعاملة البسترة لا تؤثر على قيمة المادة الغذائية ولكنها تعتبر كافية لقتل الميكروبات المرضية والخضرية ولكن غير كافية لقتل الجراثيم والميكروبات المقاومة للحرارة لذلك فإنه غالباً ما تحفظ الأغذية بعد بسترتها على درجة حرارة منخفضة لإطالة مدة حفظها.

وتستخدم البسترة فى الأغذية التى تقل قيمتها الغذائية بالغليان مثل اللبن والمنتجات اللبنية وعصير الفواكه والأغذية المتخمرة كالخل والبيرة والنبيذ.

ب- الغليان Boiling

تستعمل هذه المعاملة في الأغذية التى تتحمل الغليان والتى يكون احتمال فسادها بالميكروبات المتجرثمة قليل لذلك فهى منتشرة فى حفظ الأغذية الحمضية كعصير الطماطم والمربات وفى الأغذية المعدة بالمنزل.

ولإطالة مدة حفظ الأغذية المطبوخة بالمنزل وهى مازالت تحتوى على جراثيم تستعمل طريقة مكملة للحفظ بعد الغليان مثل الحفظ بالتبريد.

جـ- التعليب Canning

هذه الطريقة من الطرق الشائعة الاستعمال فى الحفظ وان لم تكن أفضلها لحدوث تغيرات فى مظهر بعض الأغذية.

والتعليب هو حفظ الأغذية فى أوعية محكمة القفل بعد المعاملة الحرارية على درجة حرارة أعلى من ١٠٠°م ويستعمل فى ذلك معقمات البخار المضغوط. وتختلف المعاملة الحرارية للغذاء أى المدة ودرجة الحرارة المستعملة فى التعقيم حسب ظروف الغذاء وتحمله للحرارة وكثافة وأنواع ما يحمله من ميكروبات.

تؤثر حموضة الغذاء على المعاملة الحرارية (درجة الحرارة والمدة) حيث أن الحموضة تساعد على قتل الميكروبات، فعند تعليب عصير الطماطم مثلا وهو غذاء حمضى لا يحتاج الأمر لأكثر من الغليان لدقائق محدودة، بينما يستعمل التعقيم بالبخار المضغوط (١٢١° م) ولمدة أطول للأغذية المعلبة منخفضة الحموضة كاللحوم.

جدول(٧-١) :أقسام الأغذية من حيث درجة حموضتها

نوع الأغذية		pH	أمثلة لبعض الأغذية
حمضية	عالية الحموضة	٢,٥ -٣,٥	المخللات، الموالح، الفراولة
	حمضية	٣,٥- ٤,٥ *	عصير الطماطم وأغلب الفواكه

غير حمضية	متوسطة الحموضة	٤,٥ – ٥,٥	بعض الخضر، كالجزر، والبنجر، والسبانخ، والكوسة، والأسبرجس
	منخفضة الحموضة	٥,٥ – ٧ **	أغلب الخضر، اللحوم، الأسماك، الدواجن، اللبن، والبيض

*عند pH ٤.٥ يكون الطعام حمضيا بالقدر الكافى الذى يحد من نمو الكائنات الدقيقة لذلك اتخذت هذه الدرجة كأساس لتقسيم الأغذية إلى حمضية (pH أقل من ٤,٥) وغير حمضية (pH أكثر من ٤,٥).

** بعض الأغذية مثل منقوع العرقسوس يصل بها الـ pH إلى ٩.

يلجأ صانع الأغذية إلى التعقيم التجارى **Commercial sterilization** وليس التعقيم البكتريولوجى باستخدام المعاملة الحرارية التى تكفى لقتل الميكروبات المفسدة والممرضة وفى نفس الوقت لا تسبب ضررا بخواص الغذاء، لذلك قد تحتوى الأغذية المعلبة على جراثيم بكتريا محبة للحرارة المرتفعة ولكن ظروف التخزين عند درجات الحرارة العادية لا تسمح لها بالنمو وإحداث الفساد، ويجب أن تكون المعاملة الحرارية كافية لقتل جراثيم البكتريا اللاهوائية ***Clostridium botulinum*** المسببة للتسمم البوتشولينى المميت وأشد أنواع جراثيمها مقاومة للحرارة تقتل عند درجة ١٢١°م لمدة ١٥ق عند pH ٧.

٤ – التجفيف Drying

يعتبر الحفظ بالتجفيف من أقدم الطرق كما أنه أكثر شيوعاً حتى عن الحفظ بالتجميد، والتجفيف يقلل من نسبة الماء بالمادة الغذائية فتصبح غير صالحة لنمو الميكروبات فيقل أو يقف نشاط الميكروبات دون أن تموت، ولذلك يشترط فى الأغذية المعدة لتجفيف أن تكون خالية من الميكروبات المرضية وبعد تجفيفها تحفظ فى مكان غير رطب ويحافظ عليها من التلوث ثانية، ويستخدم التجفيف فى حفظ بعض أنواع الخضر والفواكه والألبان واللحوم والأسماك والبيض.

وتزال الرطوبة من الأغذية بطرق متعددة منها التعريض للهواء والشمس Air drying – open أو باستعمال طرق وأجهزة مناسبة مع التحكم فى درجات الحرارة والرطوبة النسبية وسرعة الهواء ومن هذه الطرق:

- استعمال تيار من الهواء الساخن Hot air drying يمرر خلال الطعام.
- أو بإمرار الغذاء على اسطوانات ساخنة Drum drying.
- أو رش المادة الغذائية السائلة فى حجرات ساخنة مفرغة من الهواء.

من مميزات التجفيف أن مدة الحفظ به طويلة وأنه يقلل من حجم ووزن الغذاء فتسهل عمليات التخزين والنقل كما أنه أقل تكلفة عن طرق الحفظ الأخرى. ولكن من عيوبه أنه قد يغير إلى حد ما من صفات الغذاء فى الطعم والقوام ويسبب فقداً لبعض الفيتامينات كما أن الغذاء المجفف يحتاج إلى النقع فى الماء لمدة طويلة قبل التناول.

٥- التجفيد Lyophilization (Freeze-drying)

هذه الطريقة تجمع بين التجميد والتجفيف حيث تجمد المادة تجميداً سريعاً ثم تجفف بالتسامى تحت تفريغ وتصل نسبة الرطوبة فى المنتج النهائى لأقل من ٠,٥٪، والمادة المعاملة بهذه الطرقة يمكن حفظها لمدة طويلة جداً تصل عدة سنوات كما فى حالة حفظ المزارع البكتيرية، ويراعى فى المنتجات المحفوظة بهذه الطريقة نفس ما اتبع فى حفظ الأغذية بالحرارة المنخفضة أو التجفيف بأن تكون الأغذية نظيفة خالية من الميكروبات وروعي الشروط الصحية فى إنتاجها.

٦- المواد الحافظة Preservatives

تعمل المواد الحافظة بالأغذية على منع أو تأخير نمو الميكروبات بها، وهذه المواد قد تضاف للغذاء أو تتكون به أثناء أعداده، والمواد الحافظة التى تتكون ببعض الأغذية أثناء إعدادها تتكون نتيجة من نشاط الميكروبات كما يحدث فى عمليات التخمر والتى من أمثلتها المخللات والألبان المتخمرة حيث يتكون أثناء التخمر الميكروبي أحماض اللاكتيك والبربيونيك والخليك التى تساعد على حفظ الغذاء.

أما المواد الحافظة التى تضاف للغذاء فهى عديدة، ويشترط فى هذه المواد أن تكون غير ضارة بصحة المستهلك، من المواد العضوية التى تضاف حمض السوربيك، والبربيونيك (لتركيز ١-٥ فى الألف) لتثبيط نمو الفطريات والبنزويك (بنسبة ١ فى الألف) للشربات وعصير الفواكه والمربات، ومن المواد المعدنية المضافة كلوريد الصوديوم فى المخللات والأغذية المملحة والنترات والنتريت لحفظ اللحوم والمحافظة على لونها الأحمر وإن كان استعمال النترات والنتريت يقابل باعتراضات كثيرة لتأثيرهما المطفر على خلايا المستهلك.

٧-التدخين Smoking

يعتبر تدخين الأغذية كالأسماك واللحوم من طرق الحفظ للمواد الحافظة لأنه أثناء التدخين يتصاعد مع دخان الخشب أو الفحم المستعمل فى التدخين أبخرة الكريزولات والكيتونات والفورمالدهيد والأحماض عضوية كالخليك والفورمويك والبروبيونيك يطلق عليها مجتمعة Pyroligenous acid وهى مواد مثبطة للميكروبات تنفذ بأنسجة الأغذية أثناء التدخين وتساعد على الحفظ، وعموماً فأن مدة التدخين تتراوح ما بين عدة ساعات إلى عدة أيام على درجة حرارة تتراوح بين ٤٣ -٧١°م

٨-التوابل Spices

تضاف التوابل أساسا للأغذية لإكسابها الطعم والنكهة المقبولة غير أن التوابل تحتوى على بعض الزيوت المضادة لنشاط الميكروبات Antimicrobial activity التى قد تساعد فى حفظ الأغذية، ويختلف تأثير هذه المواد المضادة باختلاف نوع التوابل وكميتها ونوع الميكروب، ولقد وجد أن زيوت التوابل أشد تأثيرا على الميكروبات من التوابل نفسها، كما انه بتعريض التوابل للهواء فإنها تفقد مركباتها الطيارة وتفقد بذلك تأثيرها المثبط للميكروبات.

٩-المضادات الحيوية Antibiotics

جرب استعمال المضادات الحيوية مثل الكلورتتراسيلكين والأوكسى تتراسيكلين فى حفظ الأغذية منخفضة الحموضة مثل اللحوم والأسماك والدواجن،

وعلي الرغم من أن النتائج من حيث إطالة مدة الحفظ كانت جيدة إلا أن استعمال المضادات فى الأغذية قوبل باعتراضات كثيرة نظرا للتأثير المتبقى الضار لهذه المواد على صحة الإنسان وعلى تكوين طفرات من الميكروبات المرضية مقاومة لتأثير المضادات.

١٠- الإشعاع Radiation

الأشعة فوق البنفسجية رغم إنها قاتلة للميكروبات إلا أن قدرتها على اختراق المواد محدود وهذا يحدد استعمالاتها فى عمليات الحفظ حيث يمكن أن تستعمل في تعقيم أسطح المواد مثل أسطح اللحوم المصنعة وأسطح الفطائر ومنتجات المخابز وأسطح الأدوات والأوانى وفى معاملة المياه المستخدمة فى تطهير الأسماك، والطول الموجى المستخدم من هذه الأشعة يتراوح بين ٢٥٠-٢٨٠ nm وذلك باستعمال لمبات بخار الزئبق المصنوعة من الكوارتز.

الأشعة المؤينة (مثل أشعة جاما وطولها الموجى اقل من ٠,٠١ A° ومصدرها الكوبالت المشع ^{60}Co) قاتلة للميكروبات وقدرتها عالية على اختراق المواد لذلك فان استعمالها فى حفظ الأغذية كاللحوم والدواجن والأسماك بدأ يتزايد فى السنوات الأخيرة.

يسمى تعقيم الأغذية الإشعاع بالتعقيم البارد **Cold sterilization** حيث لا ترتفع درجة حرارة الغذاء المعامل ، ومقاومة الميكروبات للإشعاع لا يتطابق مع مقاومتها للحرارة، ومن أكثر الميكروبات مقاومة للإشعاع ويهم صانع الأغذية التخلص منها هو ***Clostridium botulinum*** ويحتاج إلى مالا يقل عن ٤ ميجاراد **mega-rad** لقتله.

تختلف الميكروبات فى مقاومتها للإشعاع فأقلها مقاومة هى البكتريا السالبة لجرام يليها فى زيادة المقاومة البكتريا غير المتجرثمة الموجبة لجرام ثم الفطريات والخمائر ثم البكتريا المتجرثمة وأخيرا فان الفيروسات والإنزيمات تعتبر من أكثرها مقاومة وهذه تحتاج لقتلها إلى جرعات عالية عما يستعمل فى حالة البكتريا مثالا على ذلك فإن ٦ , . ميجاراد كافية لقتل السالمونيلا بينما تحتاج الفيروسات لجرعات أكبر من ٥ ميجاراد.

انتشار تقنية التشعيع الغذائي

لقد حرصت دول عديدة على استخدام الغذاء المشعع مثل الأرجنتين، وبنجلاديش، وبلجيكا والبرازيل وكندا والصين وكستاريكا، وكرواتيا، وكوبا والدانمارك وفنلندا وفرنسا والمجر وروسيا وجنوب أفريقيا وأسبانيا وسوريا وتايلاند وبريطانيا وأوكرانيا والأورجواي وأمريكا وفيتنام ويوغسلافيا، وكان مجموع ما صرحت به تلك الدول من أصناف الأغذية يزيد على ٤٠ صنفاً، ويوجد ٢٨ دولة تقريباً تستخدم تقنية التشعيع الغذائي بصورة تجارية، وقد بلغ حجم البهارات المعالجة بالإشعاع عام ١٩٩٥ م حوالي ٥٠,٠٠٠ طن متري.

جدول (٧-٢): الجرعة الإشعاعية المطلوبة في التطبيقات المختلفة لتشعيع الأغذية.

الغرض من التشعيع	الجرعة (كيلو جراي)	المنتجات
جرعة منخفضة (حتى ١ كيلو جراي) -منع التبرعم -منع تكاثر الحشرات (التعقيم) -تأخير النضج واكتماله	٠,٠٥ – ٠,١٥ ٠,١٥ – ٠,٥ ٠,٥ – ١,٠	-البطاطس والبصل والثوم -الحبوب والفواكه الطازجة والمعلبة واللحوم -الفواكه الطازجة والخضروات
- جرعة متوسطة (١-١٠) كيلو جراي -إطالة العمر التخزيني والتخلص من الميكروبات الضارة	١,٠ – ٣,٠ ١,٠ – ٧,٠	-السمك الطازج والفراولة -الأغذية البحرية الطازجة والمثلجة والدجاج الطازج واللحم المثلج
- جرعة عالية (١٠-٥٠ كيلو جراي) -التعقيم الصناعي (مع التسخين القليل)	٣٠ – ٥٠	-اللحم والدجاج والأغذية البحرية والوجبات الجاهزة، الأطعمة المعقمة لبعض المرضى
-إزالة التلوث من بعض أصناف منكهات الغذاء	١٠ – ٥٠	البهارات، وإعداد الإنزيمات

١١-استخدام المواد الحافظة

Using of preservatives compounds

تعمل المواد الحافظة بالأغذية على منع أو تأخير نمو الميكروبات بها وهذه المواد قد تضاف للغذاء أو تتكون به أثناء أعداده، والمواد الحافظة التى تتكون ببعض الأغذية أثناء أعدادها تتكون نتيجة نشاط الميكروبات كما يحدث أثناء عمليات التخمر والتى من أمثلتها المخللات والألبان المتخمرة حيث يتكون أثناء التخمر الميكروبي أحماض اللاكتيك والبربيونيك والخليك التى تساعد على حفظ الغذاء، أما المواد الحافظة التى تضاف للغذاء فهى عديدة ويشترط فى هذه المواد أن تكون غير ضارة بصحة المستهلك، ومن المواد العضوية التى تضاف حمض السوربيك والبربيونيك بتركيز ١-٥ فى الألف وذلك لتثبيط نمو الفطريات والبنزويك (بنسبة ١ فى الألف للشربات وعصير الفواكه والمربات، ومن المواد المعدنية المضافة كلوريد الصوديوم فى المخللات والأغذية المملحة والنترات والنيتريت لحفظ اللحوم والمحافظة على لونها الأحمر وإن كان استعمال النترات والنيتريت يقابل باعتراضات كثيرة لتأثيرهما المطفر على خلايا المستهلك.

١٢-استخدام المحاليل المركزة

يعتبر استخدام المحاليل المركزة يعتبر طريقة من طرق حفظ الأغذية بالتجفيف حيث إن كمية الماء الحر الموجودة بالغذاء تصبح في صورة غير ميسرة لنمو الميكروبات التي تسبب فساد للغذاء ومن أهم المواد التي تستخدم في تحضير المحاليل المركزة هي الملح والسكر، وعند استخدام مثل هذه المحاليل المركزة في حفظ الأغذية فان تأثيرها الضار علي الميكروبات يرجع إلي أن هذه المحاليل تؤدي إلي زيادة الضغط الأسموزي والذي يعمل علي وقف نشاط الميكروبات أو موتها بسبب حدوث بلزمة لخلايا الميكروبات، ومن أهم المحاليل المركزة التي تستخدم في هذا الصدد المحلول السكري بنسبة ٧٠٪ والمحلول الملحي بنسبة ١٥٪ ويستعمل المحلول السكري في حفظ الشربات والمربي واللبن المكثف المحلي، بينما يستخدم المحلول الملحي في حفظ الأسماك المملحة والمخللات.

فساد الأغذية Food spoilage

يحدث الفساد البيولوجى بالغذاء بسبب نشاط إنزيمات الغذاء أو الميكروبات أو الاثنين معاً ويعتبر الفساد الميكروبى أهمها ويليه الفساد الإنزيمي.

تقسم الأغذية بالنسبة لقابليتها إلى ثلاث مجاميع:

١- أغذية غير قابلة للفساد Imperishable foods

مثل السكر والحبوب والدقيق وهى لا تفسد إلا إذا تم تداولها بإهمال.

٢- أغذية متوسطة القابلية للفساد Semi-perishable foods

مثل البطاطا والبطاطس وتبقى سليمة لمدة طويلة إذا تم تداولها وخزنت بعناية.

٣- أغذية قابلة للفساد Perishable foods

وتشمل معظم الأغذية من خضروات وفاكهة ولحوم ودواجن واسماك وألبان وبيض وهذه الأغذية سريعة التعرض للفساد ما لم تحفظ بطريقة حفظ مناسبة، وتعتبر اغلب المواد الغذائية بيئة صالحة لنمو الميكروبات من بكتريا وخمائر وفطريات التى إذا توفرت لها الظروف المناسبة لنشاطها فإنها تحدث تغيرات فى مظهر وطعم ولون وتركيب وخواص الغذاء كما أن من هذه الميكروبات أنواعا ممرضة للإنسان والحيوان، وتتوقف طبيعة وسرعة فساد الغذاء على مجموعة من العوامل منها: طبيعة الغذاء ، صفاته الطبيعية والكيميائية، نوع وعدد الميكروبات الموجود به، طريقة الحفظ المستعملة وظروف التخزين، ويمكن تلخيص عمليات التحلل التى تحدث بالغذاء نتيجة نشاط الميكروبات فى التفاعلات العامة التالية.

١-تعفن Putrefaction

أغذية بروتينية+ ميكروبات محللة للبروتين ←أحماض أمينية+ أمينات+ أمونيا+ مركبات كبريتية + H_2S+ CO_2.

٢- تخمر Fermentation

أغذية كربوهيدراتية + ميكروبات مخمرة للكربوهيدرات ← أحماض عضوية + كحولات + غازات.

٣-تزنخ Rancidity

أغذية دهنية + ميكروبات محللة للدهون ←أحماض دهنية + جليسرول.

التغيرات التى تسببها الميكروبات بالغذاء ليست قاصرة فقط على تحلل المادة الغذائية بل يمكن أن تحدث أيضاً نتيجة لما تفرزه الميكروبات أثناء نشاطها التمثيلى من مواد مختلفة مثل الصبغات والمواد اللزجة وغيرها وفيما يلى سوف نذكر بعض الأمثلة على فساد الأغذية:

١-فساد الخضر والفاكهة Spoilage of vegetables and fruits

لا يوجد حد فاصل بين الأحياء الدقيقة التي تسبب فساد الخضروات والتي تسبب فساد الفاكهة وفساد هذه الأغذية قد يكون راجعا لعوامل طبيعية أو نتيجة لنشاط أنزيماتها أو لفعل الأحياء الدقيقة سواء الممرضة أو الرمية.

تعتبر الظروف التي تتعرض لها محاصيل الخضر والفاكهة أثناء الحصاد والنقل والتخزين والتسويق ذات أثر كبير علي احتمالات الفساد المتعددة كما أن الإنزيمات الداخلية ومرحلة النضج يلعبان دورا واضحاً في تهيئة تلك الثمار للمهاجمة الميكروبية، ورغم أن لكل نوع من محاصيل الخضر والفاكهة الطازجة أنواعاً سائدة من الفساد إلا أن هناك أنواعاً عامة شائعة الانتشار في الخضروات والفاكهة ومن أهمها:

١) العفن البكتيري الطري ويسببه *Erwinia caratovora* وهي تحلل البكتين مؤدية إلي قوام لين وغالبا ينتج الميكروب رائحة كريهة.

٢) عفن الفطر الرمادي ويسببه أنواع من *Botrytis* مثل *B. cinerea* ويشجعه الرطوبة والحرارة المرتفعة ولون العفن رمادي.

٣) عفن الريزوبس الطري ويسببه أنواع من الريزوبس مثل *Rhizopus nigricans* وهو يحدث نتيجة مهاجمة الفطر للنشا ويلاحظ النمو القطني المنتشر وظهور الأكياس الجرثومية كنقط سوداء.

٤) عفن الفطر الأزرق ويسببه أنواع من فطر *Penicillium* .

٥) عفن الفطر الأسود ويسببه الفطر *Aspergillus niger* .







شكل (٧-٧): نماذج لبعض الفساد في الخضر والفاكهة

٢-فساد البيض Spoilage of eggs

رغم أن غالبية البيض الموضوع حديثاً يكون معقما من الداخل فإنه سرعان ما تتلوث القشرة الخارجية بالمواد البرازية للدجاج والمياه المستخدمة في غسيل البيض بقصد إزالة الأوساخ ، الفطريات والبكتريا التي تصل للقشرة إذا وجدت رطوبة سطحية كافية فإنها تنمو إلي داخل البيض ومن الأجناس البكتيرية التي تسبب فساد البيض ما يلي :

Pseudomonas , Proteus **and** ***Achromobacter***

ومن الجدير بالذكر أن هناك بعض المعاملات التي تجري للبيض بقصد إطالة فترة تخزينه بدون تلف ومنها التخزين البارد علي درجة الصفر المئوي في وجود ٩٠٪ رطوبة نسبية.

أهم أنواع الفساد البكتيري في البيض

أ-العفن الأخضر الذي تسببه بكتريا ***Ps. fluorescence*** في مراحله الأخيرة حيث يختلط الصفار بالبياض ويمتزج اللونان.

ب-العفن عديم اللون والمسبب له بكتريا ***Pseudomonas, Achromobacter*** وبعض بكتريا القولون ، لون الصفار يتحول للون البيض والرائحة قد تصل لحالة عفنة.

ج-العفن الأسود وفيه تظهر محتويات البيضة معتمة للضوء والصفار مسود ويتفكك والرائحة متعفنة لوجود H_2s وقد يظهر ضغط غازي داخلي والمسبب أنواع من بكتريا ***Proteus***.

د-العفن القرمزي تسببه بعض سلالات من ***Pseudomonas*** .

هـ-العفن الأحمر الذي تسببه بكتريا ***Serratia*** .

٣-فساد الزيوت والدهون Spoilage of fats and oils

الغالب في فساد الزيوت والدهون هو الفساد الكيماوي مثل التزنخ بأنواعه ولكن قد يحدث فساد ميكروبي ، كثيرا من الزيوت والدهون قد تتحلل مائياً أو تتأكسد بالأحياء الدقيقة رغم الخصائص المثبطة التي قد تعرف بها بعض الزيوت والدهون ،

ونتيجة لانخفاض محتواها من الرطوبة فإن هذا يشجع نمو الفطر أكثر من أي مجموعات ميكروبية أخري حيث يوجد الفطر نامياً علي سطح براميل الدهون خصوصاً المجمدة مغيرا للونها ومؤديا لتزنخها ، البكتريا تحدث أيضاً التزنخ للزبد وزيت الزيتون ومن البكتريا المحللة للدهون أنواع من :

Bacillus** , **Micrococcus** , **Serratia** , **Proteus **and** ***Pseudomonas*** **.**

ومن أهم الفطريات التي تسبب فساد الزيوت والدهون:

Cladosporium **,** ***Aspergillus*** **and** ***Geotrichum*** **.**

٤-فساد المشروبات المعبأة Spoilage of backing beverages

وسوف نتناول المشروبات الغير كحولية حيث نجد أن تركيب المشروب له أثر واضح علي احتمال فساده حيث يلاحظ أن بعض المشروبات الطبيعة مثل التمر هندي والكركديه والعرقسوس بتركيزات ٨-١٠٪ إذا كانت محضرة بطريقة نظيفة تعتبر في حد ذاتها مطهرة للأمعاء ضد ميكروبات الأمعاء الممرضة ولذلك فإن مداومة استهلاكها خصوصا في فترة الصيف حيث تكثر الأمراض المعوية يعتبر مفيدا جدا.

وفي المياه الغازية حيث إن وجود غاز CO_2 يعتبر مثبطا أو حتي مانعاً لنمو لبعض الميكروبات ، إضافة الأحماض العضوية لهذه المشروبات يمنع نمو الميكروبات الغير متحملة للحموضة ، حمض البنزويك يضاف أحياناً لبعض المشروبات كمادة حافظة ، مكونات المشروب لا تؤثر فقط علي أعداد الميكروبات ولكن أيضاً علي الأنواع وهذا راجع للمكونات الأساسية خصوصا المياه الداخلة في إعدادها والتي لابد من معالجتها وكذلك نظافة العبوات الزجاجية المعاد تعبئتها.

ومن أهم مسببات فساد المشروبات الخمائر ***Candida** , **Torulopsis*** وهذه خمائر مصدرها الأساسي السكر المستخدم في تحضير هذه المشروبات،

والعكارة أو القوام اللزج قد تظهر فالعكارة تنتج من نمو الخميرة أو البكتريا كما أن اللزوجة تنشأ بفعل هذه الميكروبات.

٥-فساد الدقيق Spoilage of flour

نسبة الرطوبة في الدقيق تحددها القوانين الغذائية بحيث لا تزيد عن ١٤٪ بالإضافة إلي أن الاهتمام بغسيل وتجفيف الحبوب قبل الطحن وغربلة الناتج ، وكذلك الدقيق الأبيض يجري له عملية تبييض بواسطة أكسيد النيتروجين أو الكلورين أو نيتروسيل كلوريد ، وكل هذه العوامل مجتمعة تعكس أعداد قليلة من الميكروبات في الدقيق ولا تستطيع النمو ولكن عند زيادة هذه الرطوبة إلي أكثر من ١٥٪ يكون الدقيق مناسبا لنمو الميكروبات ويحدث الفساد، وفي حالة وجود البكتريا التي تكون الحمض فإن الفساد المتوقع هو التخمر المصحوب بإنتاج الغاز ويتبع ذلك تخمر كحولي بالخميرة ثم يحدث أن تنشط بكتريا حمض الخليك ، ولقد وجدت الميكروبات المحدثة للتحولات السابقة مثل بكتريا الكوليفورم .

٦-فساد الخبز Spoilage of bread

التخمرات التي تحدث في عجائن الخبز بواسطة الكائنات الحية الدقيقة تكون مرغوبة وضرورية في صناعة الأنواع المختلفة من الخبز وعادة تكون للبكتريا من مجموعة حمض اللاكتيك ولو زادت هذه العملية تؤدي إلي تخمر وحموضة الخبز الناتج ، وقد تزداد نسبة البكتريا المحللة للبروتين أثناء فترة التخمر وبالتالي يفقد العجين خاصية المطاطية ويتحول إلي عجينة لزجة.

وأهم أنواع الفساد الميكروبي للخبز ومنتجات الخبز هي:

١-**الخبز العفن** : وهو يعتبر من أهم أنواع الفساد الشائعة في الخبز ومنتجاته ويكون الخبز بعد تصنيعه خالي من الميكروبات حيث تكفي درجة الحرارة المستخدمة في صناعته لقتل كل أنواع الميكروبات وجراثيمها ، إلا أنه بعد ذلك تصل الفطريات إلي السطح الخارجي للرغيف من التناول اليدوي أو هواء التبريد وتستطيع أن تنفذ إلي الداخل ويكون النمو الأولي لها علي ثنايا السطح أو بين القطع ، ومن أهم الفطريات المسئولة عن إحداث هذا الفساد هي *Rhizopus nigricans* .

٢-**الخبز الأحمر** : ويكون الخبز لزج القوام والمظهر وهو نادر الحدوث واللون الأحمر ناتج من نمو بكتريا ***Serratia marcescens*** المكونة للون الأحمر أو أنواع أخري تكون الصبغات الحمراء ويحدث أن يسبب التلوث بواسطة الأنواع المشار إليها من البكتريا كذلك الظروف الغير نظيفة وارتفاع الرطوبة.

٣-**الخبز الطباشيري** : وهو أيضاً من الأنواع الغير شائعة الحدوث ويتلون أولا بلون أبيض ثم يصبح طباشيري نتيجة نمو الخميرة الشبيهة بالفطريات.

٧-فساد الأسماك ومنتجاتها Spoilage of fish and its products

الأسماك مثل اللحوم تماما يمكن أن تفسد بالتحلل الذاتي والأكسدة أو النشاط البكتيريولوجي ، الأسماك أكثر حساسية وقابلية للفساد عن اللحوم فهو بيئة مناسبة لفعل الميكروبات وأيضا زيوت الأسماك تمثل مواد مناسبة لفعل الهدم الأكسيدي عن الدهون الحيوانية الأخرى ، ولقد وجد أن الفساد البكتيري لا يبدأ إلا بعد انتهاء الطور التحضيري من مراحل نمو البكتيريا وكلما طالت هذه الفترة زاد مدة حفظ الأسماك ، ويمكن إطالة هذه الفترة بالتبريد الجيد وهو يساعد أيضاً في تأخير نمو البكتريا أو الميكروبات الأخرى.

البكتريا المسببة لفساد الأسماك

Causative bacteria for fish spoilage

الأسماك الفاسدة تحتوي عادة علي مجموعات مختلفة من البكتريا وتكون موجودة في الريم الخارجي بالإضافة إلي بعض الأنواع التي يكون مصدرها محتويات الأمعاء والأنواع التي تسبب الفساد تختلف باختلاف درجة الحرارة التي سوف يحفظ عليها السمك ، فعلي درجات الحرارة المنخفضة تنمو أنواع من ***Flavobacterium*** ***Achromobacter*** **and** ***Pseudomonas*** , وعلي درجات حرارة أعلي نوعاً ما تنمو أنواع من الأجناس ***Bacillus , Micrococcus , Escherichia, Sarcina*** **and** ***Clostridium*** .

أنواع الفساد البكتيريولوجي للأسماك Types of fish spoilage

النوع الشائع المعروف بالتعفن يبدأ أولا بتكوين روائح غير مرغوبة لظهور المركب تراي ميثيل أمين ثم يزداد بتكون مركبات الإندول والأمونيا وكبريتيد الأيدروجين ، وهي صفة للتعفن الحقيقى ولا تظهر إلا في مراحل متأخرة من الفساد .

والتغيرات اللونية تحدث عادة أثناء الفساد ويتكون اللون الأصفر أو البني المصفر بواسطة أنواع من جنس ***Micrococcus*** **and** ***Pseudomonas*** .

أما الألوان الحمراء الداكنة تكونها أنواع من الأجناس ***Micrococcus***, ***Sarcina*** **and** ***Bacillus*** وقد يسببها نمو الفطريات والخمائر ، وهي تحدث أثناء الفساد بتكون اللون الأصفر أو البني المصفر بواسطة ***Micrococcus*** **and** ***Pseudomonas*** .

مما سبق يتضح أن الفساد الذي يمكن أن يحدث علي درجة حرارة التبريد يكون محدود جدا والأسماك المملحة ممكن أن تفسد بواسطة البكتريا التي تتحمل التركيزات العالية من الملح حيث يحدث هذا الفساد بواسطة أجناس ***Serratia*** , ***Micrococcus*** , ***Pseudomonas***, ***Achromobacter*** **and** ***Bacillus*** ، وكلها يصاحبها تغيرات لونية واللون الأحمر هو الشائع.

وفي حالة الأسماك المدخنة لا يظهر أي فساد إذ لم يكن محتواها من الحمض مشجع لنمو بكتريا حمض اللاكتيك أو دخول الهواء والسماح للفطريات بالنمو، والسمك المجمد لا توجد مشاكل بكتريولوجية بعد التجميد ولكن حدوثها سوف يتوقف علي ما إذا كان حدث تلوث قبل التجميد من عدمه.

والأسماك القشرية مثل الجمبري تكون عرضة للفساد بواسطة أنواع من الأجناس ***Flavobacterium*** **and** ***Pseudomonas*** وبصفة عامة يمكن القول بأن ***Pseudomonas and Achromobacter*** هامة في إحداث الفساد الذي يحدث علي حرارة التبريد وتنتج التعفن.

٩-فساد بعض أنواع اللحوم Spoilage of some meat types

أ-**اللحم الطازج** : ذكرنا أن أنواعاً من الميكروبات التي تلوث اللحوم أثناء تجهيزها تنشط وتسبب العيوب التي ذكرناها ، ولحم الخنزير يكون أكثر سهولة وعرضة للفساد عن الأنواع الأخرى لمحتواه العالي من فيتامينات (B).

وبكتريا حمض اللاكتيك من غالبية أجناس *Lactobacillus* and *Lactococcus* توجد في اللحوم الطازجة أو المعاملة بالتمليح ويمكن أن تنمو علي درجات حرارة التبريد في المراحل الأولي ، وعموماً فإن هذه الأنواع من الكائنات الحية الدقيقة السابقة تسبب ثلاث أنواع من الفساد هي تكوين الريم علي السطح أو في الداخل خاصة في حالة وجود السكروز أو إنتاج اللون الأخضر أو التخمر عندما تزداد كمية بكتريا حمض اللاكتيك وبعض الغازات المتكونة.

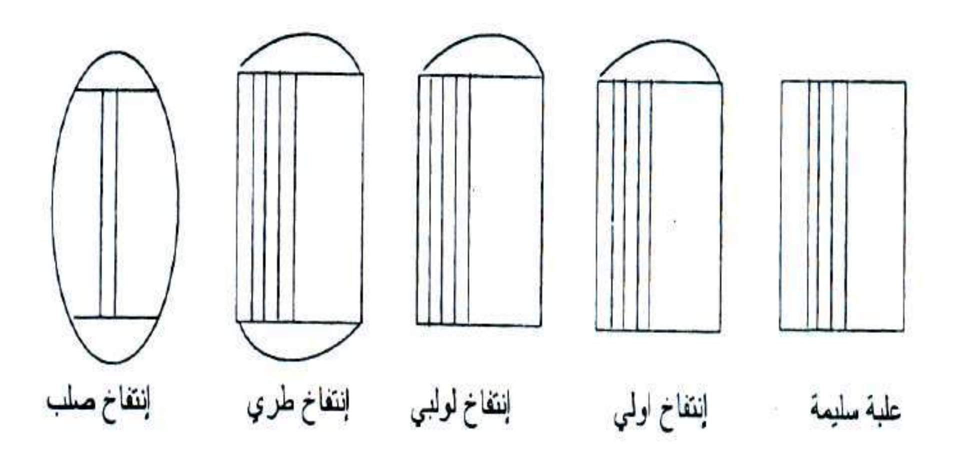
ب-**اللحم البقري الطازج** : اللون الأحمر الأصلي في اللحم يمكن أن يتحول إلي الأحمر الداكن أو البني أو التحول إلي اللون الأخضر أو الأزرق إلي البني الداكن وهذا بفعل الكائنات الحية الدقيقة المكونة للصبغات أو تكون البقع وترجع إلي أنواع مختلفة من البكتريا والخمائر والفطريات ولحوم البقر الطازجة تكون معرضة أيضاً لتكوين طبقة من الريم علي السطح راجعة إلي نمو البكتريا والخمائر.

ج-**الهامبورجر (لحم مفروم مطبوخ)** : وهذا يتعرض للتعفن في حالة تخزينه علي درجات حرارة الغرفة وفي درجة حرارة التبريد قد يتعرض لحدوث روائح غير مرغوبة وحموضة ووجد أنها راجعة إلي أنواع *Pseudomonas* وبكتريا حمض اللاكتيك. وأنواع كثيرة وجدت في هامبورجر تم تخزينه علي درجات حرارة عالية ومن ضمن الأجناس التي وجدت *Escherichia* , *Clostridium* , *Bacillus* , *Pseudomonas* , *Proteus* , *Lactococcus* and *Lactobacillus* وعزلت أيضاً فطريات *Mucor* and *Penicillium* وعدد قليل من الخمائر.

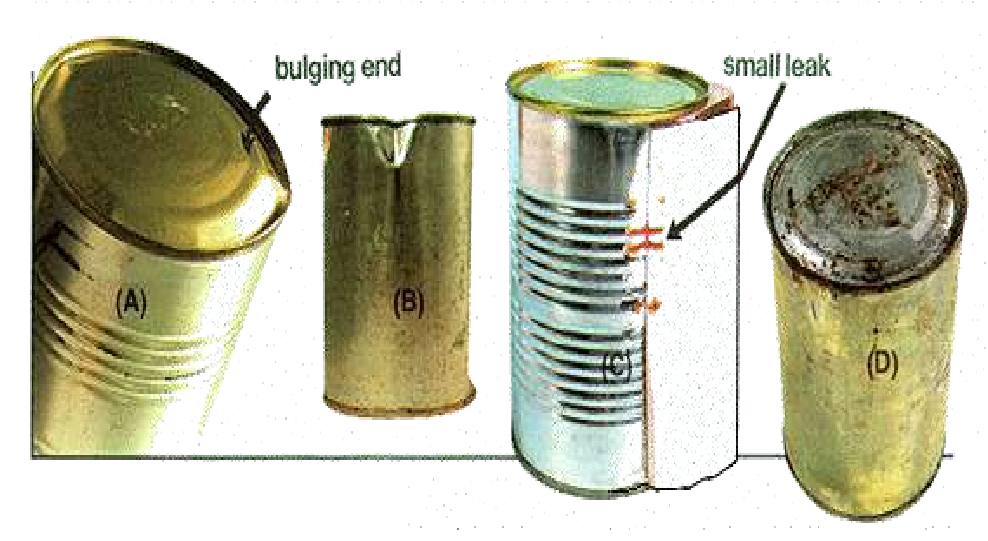
١٠-فساد الأغذية المعلبة Spoilage of canned foods

تفسد الأغذية المعلبة لأسباب عديدة قد تكون بيولوجية أو غير بيولوجية ويحدث الفساد غير البيولوجى نتيجة لتفاعل مكونات الغذاء مع معدن العلبة فيحدث انتفاخ أيدروجينى أو تلون بالغذاء وتكون روائح كريهة وعكارة، وقد يحدث الفساد نتيجة عدم كفاية المعاملة الحرارية أو عدم إحكام غلق العلبة أو حدوث تنفيس بها فتدخل الميكروبات بداخل العلبة وتسبب فساد الغذاء.

يتوقف نوع الفساد البيولوجى بالأغذية المعلبة على المعاملة الحرارية وما يتبقى بعدها من ميكروبات بالغذاء، فالأغذية منخفضة ومتوسطة الحموضة تعامل بالبخار المضغوط لذلك فإنها تفسد بالبكتريا المتجرثمة الشديدة المقاومة للحرارة كما هو موضح بالجدول التالي، والأغذية الحمضية وعالية الحموضة تعامل بدرجات حرارة قرب الغليان لذلك فإنها تفسد بأنواع مختلفة من الميكروبات منها المتجرثم وغير المتجرثم المقاوم للحموضة وكذلك بالفطر والخميرة ويوضح شكل (٧-٨) رسم تخطيطي لبعض مظاهر الفساد في الأغذية المحفوظة بالتعليب.



شكل (٧-٨): رسم تخطيطي لبعض مظاهر الفساد في الأغذية المحفوظة بالتعليب



شكل (٧-٩): بعض المظاهر الخارجية علي العلب التي حدث بها فساد أثناء التخزين

جدول (٧-٣): أنواع الفساد بالأغذية المعلبة منخفضة ومتوسطة الحموضة (كالخضروات واللحوم).

نوع الفساد والمسبب	مظهر الفساد	
	فى العلبة	فى الغذاء
فساد المسطح الحمضى(*) بكتريا محبة للحرارة المرتفعة *Bacillus stearothermophilus*	لا يحدث انتفاخ بالعلبة	مظهر الغذاء عادى زيادة شديدة فى حموضة الغذاء
فساد غازى بدون تكوين H_2s *Cl. thermosaccharolyticum*	تنتفخ العلبة تدريجياً وقد تنفجر	تكون حموضة وروائح وغازات
كبريتى نتن (عفن) *Cl. nigrifcans*	لا يحدث انتفاخ بالعلبة ويتكون H_2S، ويمتص بالغذاء	اسوداد الغذاء وروائح تعفنيه

تعفن (بكتريا محبة للحرارة المتوسطة) *Cl. sporogenes*	تنتفخ العلبة تدريجياً وقد تنفجر	غازات وروائح تعفنيه

جدول (٧-٤) أنواع الفساد بالأغذية المعلبة الحمضية (مثل العصائر والفواكه وصلصة الطماطم)

نوع الفساد والمسبب	مظهر الفساد	
	فى العلبة	فى الغذاء
فساد المسطح الحمضى *Bacillus thermoacidurans*	لا يحدث انتفاخ بالعلبة	تغير فى الحموضة مع روائح كريهة وطعم غير مقبول
تخمر بيوتيريكى *Cl. butyricum*	انتفاخ العلبة تدريجياً وقد تنفجر	تخمر وغازات ورائحة حمض البيوتيريك
(*) بكتريا غير متجرثمة	انتفاخ العلبة تدريجياً وقد تنفجر	طعم حمضى وتكون غازات
(*) خمائر	انتفاخ العلبة تدريجياً وقد تنفجر	تخمر غازات، ورائحة الخميرة
(*) فطريات	لا يحدث انتفاخ بالعلبة	نمو سطحى للفطر، وروائح غير مقبولة

(*) توجد هذه الميكروبات بالغذاء إذا كانت المعاملة الحرارية غير كافية.

السموم الميكروبية

تاريخ السموم الميكروبية

لم يكن الإنسان يهتم منذ القدم سوى بالسموم الحيوانية والنباتية وسموم المعادن الثقيلة، إلى أن تم اكتشاف أول سم ميكروبى فى عام ١٩٨٨ م وهو سم الخناق المنتج من بكتريا ***Corynbacterium diphtheria*** إذ لاحظ العلماء أن الراشح الناتج من زراعة هذه البكتريا فى مزرعة سائلة كان ذو سمية قاتلة للحيوانات المختبرة، بعدها بعام واحد تم اكتشاف سم **Botulism** والسم المنتج من ***Clostiridium tetani***، وفى عام ١٨٩٦م اكتشف سم الكوليرا وسموم المكورات العنقودية، كل هذه السموم سموم خارجية، أما السموم الداخلية فقد اكتشفت عام ١٩٣٥م.

وكلمة السموم الميكروبية تشمل السموم البكتيرية **Bacterial toxins**، والسموم الفطرية **Mycotoxins**، وسموم الطحالب **Algal toxins**، وتقوم العديد من الكائنات الحية الدقيقة بإفراز السموم **Toxins** فى الأغذية وأكثرها تأثيراً هى السموم البكتيرية والسموم الفطرية ، والسموم **Toxins** التى يكونها الميكروب هى عبارة عن نواتج ثانوية للتمثيل الغذائى وأغلبها عبارة عن بروتين أو عديد الببتيدات، وتختلف السموم المنتجة على حسب نوع الميكروب.

أولاً: السموم البكتيرية Bacterial toxins

تقسم السموم البكتيرية على حسب نوع ومكان تأثير السموم

١-السموم العصبية Neurotoxins

وهى سموم تؤثر على الجهاز العصبى مثل سم بكتريا ***Cl. botulinum*** والسم الناتج من ***Cl. tetani*** .

٢-السموم المعوية Enterotoxins

وهى تؤثر فى الامعاء حيث تسبب خلل فى توازن الأيونات الموجودة فى الخلايا مثل الكالسيوم والصوديوم فيحدث فقدان شديد للسوائل وإسهال شديد، ومن أنواعها سم

الكوليرا **Choleragen** المنتج من ***Vibrio cholera*** وكذلك السموم المنتجة من ***E. coli*** .

٣-السموم الخلوية **Cytotoxins** وهى تؤثر على خلايا الدم أو خلايا القلب وتؤدى إلى موت الخلايا ومنها السم المنتج من ***Corynbacterium diphtheria*** .

تقسيم السموم البكتيرية على حسب تركيبها:

١- سموم بروتينية

وتنتجها معظم البكتريا الموجبة والسالبة لجرام وهى سموم تفرز خارج الخلية، وهى عبارة عن معقد من البروتينات ذات وزن جزيئى مرتفع قد يصل إلى مليون دالتون، وهذه المركبات تنتج طبيعياً أثناء عملية التمثيل الغذائى لخلية الميكروب وهى مركبات شديدة التخصص.

٢- سموم Lipopolysaccharide

هى عبارة عن معقد من البروتينات وعديدات التسكر مع الدهون **Lipopolysaccarides**، حيث تمثل الطبقة الخارجية في تركيب الجدار الخلوى في البكتريا السالبة لجرام مثل ***Shigella* spp, *Salmonella* spp** وغيرها من البكتريا المعوية وتعرف بالسموم الداخلية **Endotoxins**.

تقسيم السموم البكتيرية على حسب إفرازها في الوسط

أولاً: السموم الخارجية Exotoxins

تفرز بعض أنواع البكتريا الموجبة لجرام مثل ***Staphylococcus* sp,** ***Clostridium* sp** سموماً خارج الخلية الميكروبية تعرف بالسموم الخارجية **Exotoxins** وهى مواد ذات طبيعة بروتينية قابلة للانتشار من داخل الخلية الميكروبية التى تنتجها في الوسط الخارجى المحيط بالميكروب مثل بيئة المزرعة أو أنسجة العائل كما فى مرض الدفتريا أو المادة الغذائية كما فى التسمم الغذائى العنقودى والتسمم الغذائى البوتشولينى.

خصائص السموم الخارجية

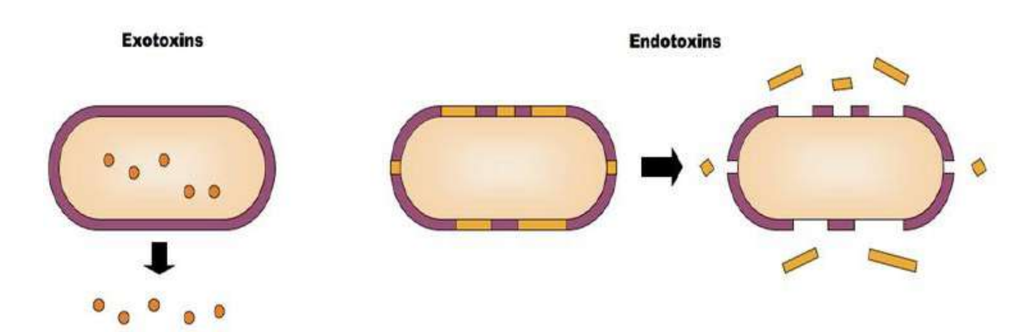
السموم الخارجية غير مقاومة للحرارة وتفقد سميتها بالتسخين لدرجة ٦٠-١٠٠ °م لمدة ٣٠ دقيقة، كما تفقد سميتها بالتخزين لفترات طويلة أو بمعاملتها ببعض الكيماويات مثل الفينول، الأحماض والفورمالدهيد وذلك نتيجة لتثبيط عمل بعض الأحماض الأمينية فى هذه السموم، ويتحول التوكسين نتيجة المعاملة بالفورمالدهيد من مادة سامة إلى مادة غير سامة تسمى توكسويد **Toxoid** ذات خواص أنتيجينية تستخدم كأنتيجين **Antigen** لوقاية الأشخاص المعرضين للتسمم الميكروبى مثل الدفتريا حيث أن التوكسويدات تحفز الجسم على إنتاج مضادات التوكسين **Antitoxins** التى تعادل السم الميكروبى المتكون بجسم العائل.

ألية عمل السموم الخارجية

السموم الميكروبية الخارجية ذات تأثير متخصص على أجزاء جسم العائل حيث نجد أن بعض السموم الخارجية تؤثر:

- على الجهاز العصبى وهو السم العصبى **Neurotoxin** مثل السم البوتشولينى وسم التيتانوس من خلال تثبيط وظيفة التشابك العصبى **Nerve synapse**،
- على الجهاز الهضمى وهو السم المعوى **Enterotoxin** مثل السم العنقودى وسم الكوليرا، من خلال تحطيم عملية النقل عبر الأغشية حيث تسبب خلل فى توازن الأيونات الموجودة فى الخلايا مثل الكالسيوم والصوديوم فيحدث فقدان شديد للسوائل وإسهال شديد
- بعض السموم تؤثر على الخلايا وتقتلها وهو السم الخلوى **Cytotoxin** مثل سم الدفتريا من خلال إتلاف أغشية الخلية.

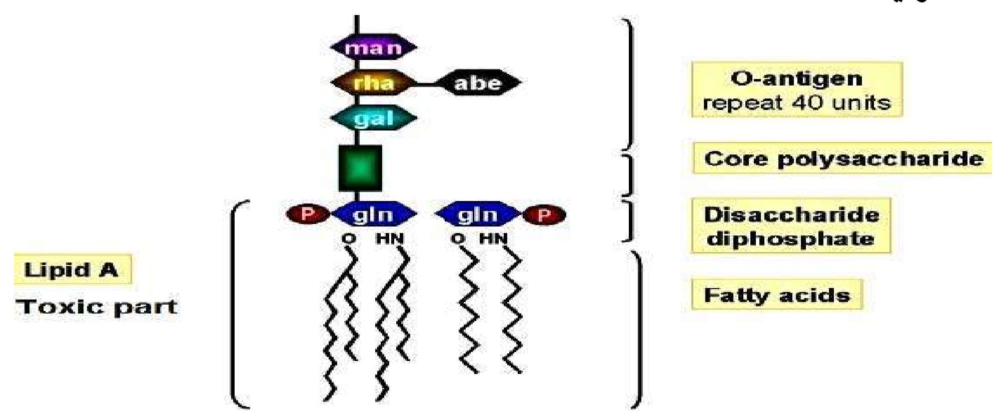
والجرعة القاتلة من السموم الخارجية تكون صغير جدا مقارنة بالسموم الداخلية، وبعض هذه السموم لها تأثير قاتل مثل السم البوتشولينى **A** وهو أقوى سم معروف، وتؤثر السموم الخارجية من خلال تثبيط تخليق البروتين.



شكل (٧-١٠): السموم الخارجية والداخلية

ثانياً: السموم الداخلية Endotoxins

هى عبارة عن معقد من البروتينات وعديدات التسكر مع الدهون Lipopolysaccarides، حيث تمثل الطبقة الخارجية في تركيب الجدار الخلوى في البكتريا السالبة لجرام مثل *Salmonella* spp, *Shigella* spp وغيرها من البكتريا المعوية، ولا تخرج إلى الوسط المحيط إلا بعد موت البكتريا وتعرف بالسموم الداخلية Endotoxins، هذه البكتريا تتكاثر بدرجة كبيرة فى أنسجة العائل وتتوغل بها، وقد تنطلق هذه السموم إلى الوسط المحيط بعد موت الخلايا وتحللها كما فى السالمونيلا.



شكل (٧-١١): تركيب السم الداخلى Lipopolysaccharide

خصائص السموم الداخلية

السموم الداخلية أكثر مقاومة للحرارة من السموم الخارجية حيث تقاوم درجات الحرارة المرتفعة بما فيها الغليان لمدة نصف ساعة، وهى أقل سمية من السموم

الخارجية، كما أن السموم الداخلية على عكس السموم الخارجية لا تكون توكسويدات ومن الصعب التعادل مع مضادات التوكسين.

ألية عمل السموم الداخلية

يعتمد تأثير السموم الداخلية على تركيزها، فعند تركيزاتها المنخفضة تحفز سلسلة من التفاعلات منها تسبب الحمى لأنها تحفز إطلاق بروتين Endogenous pyrogens من الخلايا، كما تحفز زيادة نفاذية الأوعية الدموية وإطلاق الإنزيمات المحللة Lysozymes فيحدث الالتهاب، كما أن السم الداخلى يحفز نشاط الخلايا البلعمية Macrophages ، أما فى التركيزات العالية من السموم الداخلية فتؤدى إلى صدمة قاتلة Endotoxic shock syndrome يتمثل فى الحمى وانخفاض كبير فى ضغط الدم وحدوث تخثر للدم وانتشار الجلطات داخل الأوعية الدموية.

جدول (٧-٥):أهم المميزات والفروق بين السموم الميكروبية الخارجية والداخلية.

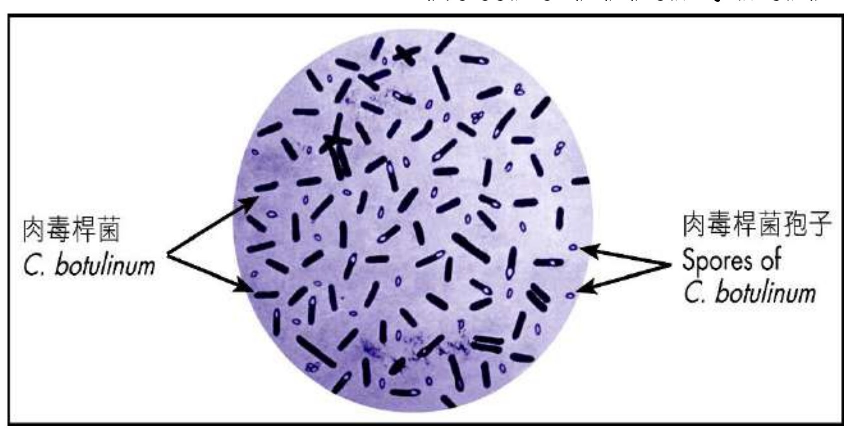
الصفة	السموم الخارجية	السموم الداخلية
الإفراز	خارج الخلية الميكروبية	داخل الخلية الميكروبية
البكتريا المنتجة	بكتريا موجبة لجرام	بكتريا سالبة لجرام
التركيب الكيمائي	بروتين	معقد من ليبو بولي سكريد وليبوبروتين
التأثر بالحرارة	تتأثر بالحرارة وتفقد سميتها عند ٦٠-١٠٠ م لمدة ٣٠ ق	تتحمل الحرارة بما في ذلك الغليان
المناعة	يمكن تحويلها الى توكسويدات تتعادل مع مضادات التوكسين	لا تكون توكسويدات التعادل صعب مع مضادات التوكسين
التأثير البيولوجي	متخصص وشديد التأثير	التأثير عام ومتعدد تكون أغلبها حميات وحساسية عامة

الجرعة القاتلة	كميات صغيرة جدا	كميات أكبر عن تلك الخاصة بالسموم الخارجية

أهم أنواع السموم البكتيرية

١-التسمم البوتشولينى Botulism

يتسبب هذا التسمم عن توكسين خارجى تفرزه بكتريا *Clostridium botulinum* وهو ميكروب موجب لصبغة جرام عصوى متجرثم بجرثومة تحت طرفية ذو اسبورانجيا منتفخة لاهوائى، وينمو فى الأغذية المعلبة غير محكمة التعقيم خاصة الأغذية منخفضة الحموضة وكذلك فى الأغذية المعلبة بالمنزل، وللميكروب عدة سلالات يميز بينها بيوكيميائياً وسيرولوجياً.



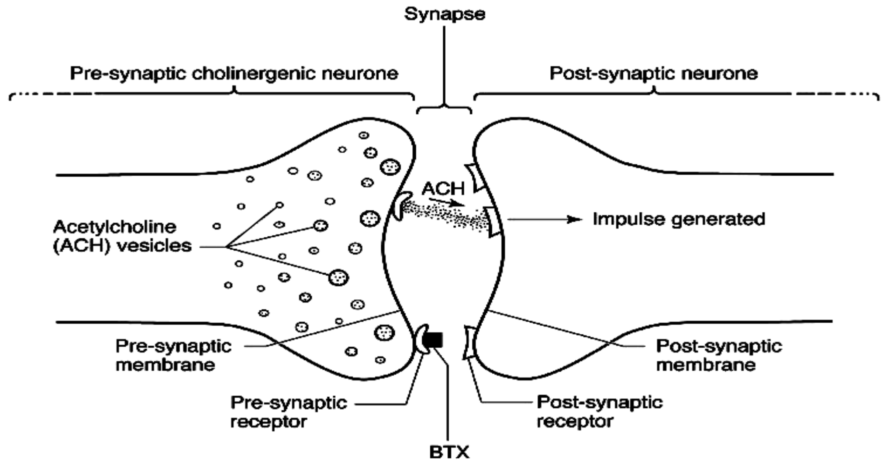
شكل (٧-١٢): بكتريا *Clostridium botulinum*

الميكروب شديد المقاومة للحرارة وتتحمل الجراثيم درجة ١٢١ °م لعدة دقائق إلا أن التوكسين يتأثر بالحرارة، وعلى ذلك فان الوقاية من هذا التسمم تتأتى من استخدام الحرارة الكافية عند التعليب والغليان الجيد قبل الأكل للغذاء المشكوك فيه لإتلاف التوكسين وذلك لمدة ١٥ دقيقة.

ألية عمل السم

السم البوتيولينى مادة بروتينية لها سبعة أنواع تنتجها هذه البكتريا، وهو أخطر أنواع السموم البيولوجية المعروفة، إذ يكفى ٣ كجم منه لقتل سكان العالم أجمع، وتأثير السم يكون على الجهاز العصبى، إذ يرتبط السم بمناطق التشابك

العصبى ويمنع إطلاق الإشارات العصبية حيث يمنع إطلاق مادة **Acetyl choline** من الأعصاب المحيطة مما يسبب شلل الأعصاب وبالتالى يمنع تقلص العضلات خاصة فى الجهاز التنفسى.



شكل (٧-١٣): ميكانيكية عمل السم البوتيولينى

أعراض التسمم

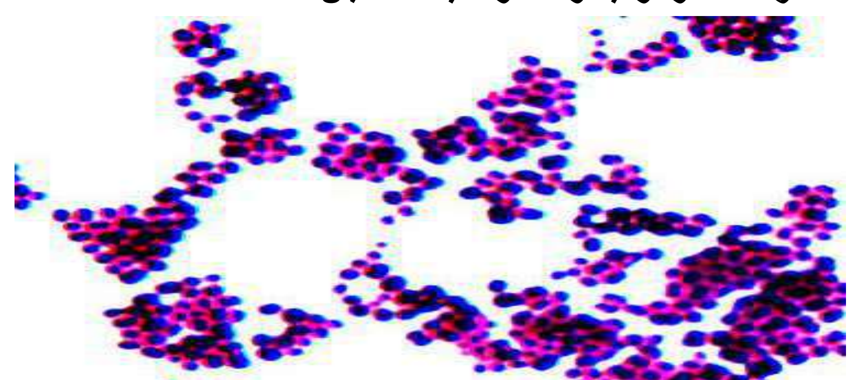
عند تناول الغذاء الملوث بالسم البوتيولينى تظهر الأعراض بعد ١٢-٣٦ ساعة (٢٤ ساعة فى المتوسط) حتى يمتص السم ويذهب الى مجرى الدم ثم ينتقل إلى جميع أنحاء الجسم، وتبدأ كصداع ودوار وصعوبة فى البلع والنطق والتنفس والنظر ثم يحدث شلل بالجهاز بالعضلات التنفسية مما يؤدى الى الوفاة نتيجة الاختناق وفقدان الاكسجين، ويعتبر التوكسين من أخطر التوكسينات المعروفة تأثيرا ولذلك فان نسبة الموت من هذا التسمم عالية تزيد عن ٦٥% ويحدث الموت بعد ٣-٨ أيام من ظهور الأعراض.

وتعد الأغذية البروتينية من أكثر الأغذية التى ينتشر فيها التسمم البوتيولينى مثل الدجاج والأسماك والجبن، ويمنع تواجد البكتريا وجود ملح الطعام بنسبة ٨%، وتعتبر الأغذية المعلبة هى الأخطر لأنها توفر الظروف اللاهوائية لنمو الميكروب، ويبدأ العلاج بغسل المعدة وإعطاء مضاد حيوى لإيقاف نمو البكتريا، وإعطاء مضاد

للسم فى حالة التشخيص المبكر، ويتم التركيز على تنشيط القلب والتنفس لمنع حدوث الوفاة.

٢- التسمم العنقودى Staphylococcal food-poisoning

يتسبب هذا التسمم عن توكسين خارجى معوى Enterotoxin تفرزه سلالات من بكتريا *Staphylococcus aureus*، وهو ميكروب موجب لصبغة جرام كروى فى عناقيد غير متجرثم اختياري للهواء يفرز صبغات صفراء اللون موجب للكوأجيولاز (إنزيم يجمع بلازما الدم) وينمو الميكروب فى بيئة بها ١٠% NaCl ويتحمل ملوحة حتى ١٥%، هذا التسمم شائع الحدوث خاصة فى الأفراح والحفلات الجماعية وأكثر الأغذية تعرضا لهذا التسمم هى الأغذية منخفضة الحموضة عموماً خاصة الفطائر المحشوة والجاتوهات ومنتجات الألبان.



شكل (٧-١٤): بكتريا *Staphylococcus aureus*

ألية عمل السم

تنتج هذه البكتريا عدة أنواع من السموم يختلف تأثيرها على حسب نوعها وأهم تلك السموم هو السموم المعوية Staphylococcal enterotoxin وهناك عشرة أنواع سيرولوجية من السم المعوى لهذه البكتريا.

يقوم السم بتنشيط مستقبلات خاصة ضمن القناة الهضمية فتطلق إشارات عصبية إلى مركز التقيؤ بالمخ عن طريق العصب السمبثاوى، كما يسبب الإسهال عن طريق تثبيط امتصاص الماء من تجويف الأمعاء وزيادة تدفق السوائل عبر الغشاء المخاطى الى تجويف الامعاء، تظهر الأعراض حسب حساسية الشخص

المصاب بعد ١-٦ ساعات (٣ ساعات فى المتوسط) من تناول الغذاء المحتوى على التوكسين وذلك فى صورة اضطرابات معوية مصحوبة بالمغص والقيئ والإسهال ولا تحدث وفيات من هذا التسمم ويتم الشفاء خلال يوم إلى ثلاثة أيام، الميكروب المسبب للتسمم غير متجرثم يقتل بسهولة عند درجة حرارة أقل من ١٠٠ ° م ، إلا أن التوكسين شديد المقاومة للحرارة ولا يتلف بالغليان، وعلى ذلك فإنه لمنع هذا التسمم يبرد الغذاء المطبوخ بسرعة ويوضع فى الثلاجة لإيقاف نمو ونشاط الميكروب حتى لا يتكون التوكسين هذا مع مراعاة الأصول الصحية فى تداول الغذاء لمنع وصول الميكروب للغذاء.

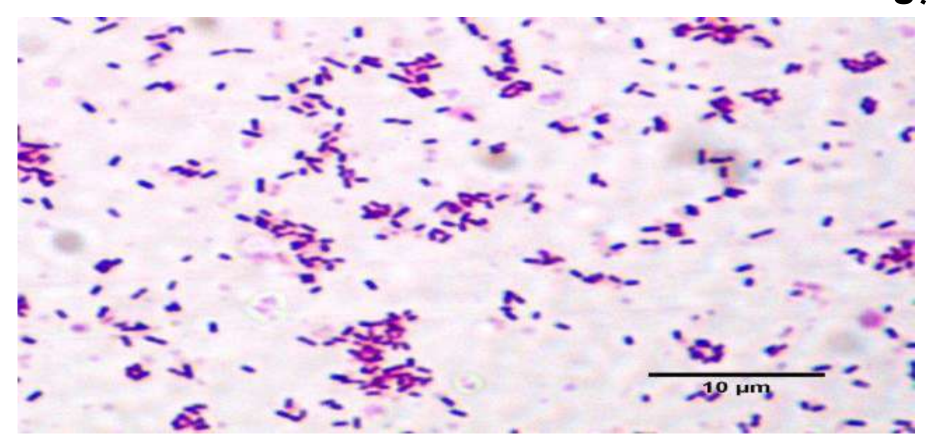
٣- التسمم بالسالمونيلا Salmonella food-poisoning

يتسبب هذا التسمم عن عدوى ميكروبية من بكتريا *Salmonella typhimurium* and *Salmonella typhi* ، وهى ميكروبات سالبة لصبغة جرام، عصوية قصيرة، غير متجرثمة، اختيارية للهواء، لا تحلل سكر اللاكتوز ، وبعض أنواعها ممرضة للدواجن، والحيوانات، ويميز بين السلالات بقدرتها على تحليل السكريات المختلفة وباختبارات التجمع.

تظهر الأعراض بعد ٧-٣٠ ساعة (١٥ ساعة فى المتوسط) من أكل الغذاء الملوث بأعداد كبيرة من البكتريا المفرزة للسم، وطول فترة الحضانة هذه، تميز التسمم بالسالمونيلا عن التسمم العنقودى (٣ ساعة فى المتوسط) وتظهر الأعراض فى صورة اضطرابات معوية بشكل غثيان وألام فى البطن وصداع وإسهال وإجهاد ودوار وارتفاع بسيط فى الحرارة، ويستمر المرض لعدة أيام (من ٢ إلى ٤يوم) وهو أقل انتشارا من التسمم العنقودى ونسبة الوفيات به أقل من ١%، وتنتقل الميكروبات إلى الغذاء بواسطة الذباب وأكثر الأغذية تعرضاً هى الأغذية منخفضة الحموضة خاصة اللحوم والدواجن والأسماك وألبان الحيوانات المصابة، وللوقاية من هذا التسمم يراعى النظافة والإشراف الدقيق فى السلخانات على الحيوانات المذبوحة وعلى الطعام جيدا قبل الأكل لقتل الميكروب، وفى الدول المستوردة للحوم فإن المحاجر البيطرية هى خط الدفاع الأول من اللحوم والدواجن والأسماك المجمدة المستوردة المصابة.

٤- التسمم ببكتريا *Listeria* (Foodborne Listeriosis)

المسبب بكتريا ***Listeria monocytogenes*** وهى بكتريا عصوية موجبة لجرام، لاهوائية اختيارية، لا تكون جراثيم. موجبة للكتاليز وتخمر السكريات وتنتج حمض اللاكتيك ولاتنتج غاز، تتحمل النمو فى درجات حرارة منخفضة إذ أن النطاق الحرارى لها من ١٠ – ٤٥ درجة، كما أن نطاق pH لها من ٤–٩,٦، وتتواجد فى منتجات الألبان والحليب الخام والجبن الطرية، واللحم المجمد والطازج ولحوم الدواجن.



شكل(٧–١٥): *L. monocytogenes*

يعتبر النوع ***L. monocytogenes*** النوع الممرض للإنسان بخلاف الأنواع الأخرى، وتحلل تلك البكتريا الدم تحليل كامل **β–hemolysis**. وتفرز سم خارجى، وعندما تدخل البكتريا عن طريق الفم فإنها تستوطن القناة المعوية ثم تغزو الانسجة وتدخل مجرى الدم وتدخل الى الخلايا ولذلك تعتبر ممرض داخلي خلوى، وتدخل إلى الخلايا البلعمية **Phagocyte** أو الخلايا غير البلعمية، ولا توجد أعراض محددة للإصابة بتلك البكتريا ولكن قد تسبب إجهاض عند الإناث ويحصل عند البعض تقيؤ وألم بطنى وإسهال.

٥- سموم بكتريا *E. coli*

بكتريا ***E. coli*** عصويات قصيرة سالبة لجرام متحركة بفلاجيلات محيطية، غير متجرثمة، موجبة للكتاليز وسالبة للأكسيديز تخمر اللاكتوز ولا تستهلك السترات

كمصدر للكربون، تضم العديد من الأنواع منها غير المرضية والتى تعيش فى أمعاء الإنسان، ومنها المرضية ويتبعها عدة سلالات تقسم كالتالى:

١. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) : تسبب الإسهال وترتبط بإسهال الأطفال ولها القدرة على الالتصاق بخلايا الأمعاء، ولا تنتج سموم.

٢. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC): وتسبب الإسهال المائى الحاد المؤدى إلى الجفاف، وتزداد نسبة حدوثها بين المسافرين وخصوصاً الشباب الصغير من الدول المتقدمة إلى الدول النامية، لذلك يعرف بمرض Travelers diarrhea، وتمتلك القابلية على إنتاج السموم المعوية بنوعيها وهى سموم تؤدى إلى فقد كمية كبيرة من الماء والأيونات من خلايا الأمعاء الى تجويف الأمعاء ثم حدوث الاسهال، وأهم تلك السموم Heat Labile toxin (LT) وهو سم غير ثابت حرارياً يتحطم عند درجة حرارة ٦٠ درجة لمدة نصف ساعة، ويشبه سم الكوليرا فى التركيب والفعالية، وكذلك سم Heat stable enterotoxin (ST) وهو ثابت حرارياً إذ يتحمل الغليان لمدة ١٥ دقيقة.

٣. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) : لها القدرة على غزو الخلايا الطلائية المبطنة للأمعاء الغليظة وتفتقد إلى الفلاجيلات، وتشبه أعراضها الإصابة بالشيجيلا.

٤. Enteroaggregative *E. coli* (EAEC): تمتلك فمبريا تساعد على التصاقها بالخلايا، وتسبب الإسهال المستمر بدون حمى، ويصاب بها المرضى الذين يعانون من نقص المناعة.

٥. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC): وقد يطلق عليها *E. coli* المنتجة لسم Verotoxin وأشهرها *E. coli* O157:H7.

وتسبب تلك البكتريا التهاب القولون النزفى حيث يحدث الإسهال بعد ٣-١٠ أيام من الإصابة ويبدأ بإسهال عادى مع ألم فى البطن وحمى قليلة وتقيؤ، ثم بعد يوم أو اثنين يصبح الإسهال دموى، كما تسبب فشل كلوي عند الأطفال ويحتاج المريض غسيلاً كلوياً وقد تبقى المعاناة مزمنة وقد يدخل الطفل فى غيبوبة ثم يموت، ويقتل هذا المرض المسنين والأطفال ، كما قد يسبب تلف في المخ ولذلك

فإن معدل الوفاة عالي جداً ولكنه نادر الحدوث، ولذلك تشكل بكتريا *E. coli* O157: H7 خطراً حقيقياً، وتحدث الإصابة ببكتريا *E. coli* O157:H7 عن طريق تناول الطعام والشراب الملوث ووجود ١٠٠-٢٠٠ خلية قد تؤدى لحدوث الإصابة، والبكتريا تقاوم بيئة المعدة وتتنافس مع البكتريا الموجودة، ثم تلتصق بالخلايا المبطنة للأمعاء ثم تنتقل الى مجرى الدم. وتتواجد تلك البكتريا فى الحليب ومنتجاته، والماء والفاكهة والخضروات، وتزداد الإصابة بها فى الصيف.

٦- العدوى بالشيجيلا Shigellosis

تعتبر العدوى بميكروبات الشيجيلا .*Shigella* spp مشكلة في البلدان النامية نظراً لوجود الظروف غير الصحية، وتحدث العدى بالشيجيلا عن طريق تلوث الغذاء والماء بالمواد البرازية ويكون ذلك عن طريق الممارسات الصحية غير السليمة لمتداول الغذاء المصاب بالشيجيلا، ويعتبر الإنسان هو المصدر الرئيسي لهذا الميكروب ونادراً ما يوجد فى الحيوان، يعتبر جنس الشيجيلا هو السبب فى مرض العدوى الشيجلية والذي يطلق عليه الزحار الباسيلى Bacillary dysentery ، وأنواع الشيجيلا عموماً لا تقاوم الحرارة حيث يمكن القضاء عليها على ٦٣°م لمدة خمس دقائق ، ودرجة الحرارة المثلى للنمو هي ٣٧°م وتستطيع تحمل pH 4-4.5 ولكن يمكنها البقاء لمدة ٣٠ دقيقة فقط على pH 3.5 ، وتتراوح أعراض الإصابة من إسهال متوسط إلى زحار شديد، وقد تشمل الأعراض برازاً دموياً مع مخاط وقيح وجفاف وحمي ورجفة وتسمم دموي وتقيؤ، وتتراوح فترة الأعراض من يوم إلى سبعة أيام ، ولكن عادة ما تكون الفترة أقل من أربعة أيام، ويستمر المرض من بضعة أيام إلى أسبوعين.

انتقال الشيجيلا بواسطة الغذاء

يعتبر الإنسان والثدييات الراقية هي المصادر المعروفة للشيجيلا، وتوجد الميكروبات بالجزء الأسفل من القناة الهضمية للشخص المصاب أو الحامل للمرض وتخرج مع البراز، وعادة تفرز الشيجيلا في براز الأصحاء الناقهين والحاملين للمرض لمدة من٣-٥ أسابيع بعد اختفاء الأعراض، وقد يستمر البعض لمدة تصل إلى

خمسة شهور، ويعتبر متداولى الغذاء الذين لا يمارسون النظافة الشخصية من أهم العوامل المسببة لتفشى هذا المرض، كما أن التبريد غير المناسب للغذاء الملوث يساهم في حالات التفشي، ومن المحتمل أن يكون الذباب ناقلا للعدوى بالشيجيلا من البراز إلى الغذاء، وتحدث معظم حالات التفشي المعروفة من الأغذية التي أسيئ تداولها في مؤسسات الخدمة الغذائية. وتعتبر السلطات الخضراء من أكثر الأغذية المرتبطة بالعدوى الشيجلية فحوالي ثلثي حالات التفشي الغذائية مرتبطة يتناول السلطات خاصة تلك المرتبطة بالبطاطس والتونة، وتعد أيضاً الخضر الورقية والخس واللبن الحليب ومنتجاته ولاسيما الجبن الطرية والأيس كريم واللحوم الملوثة وبعض منتجات المخابز والهمبرجر والمحار النيئ والبطيخ وفطائر القشدة من أهم أنواع الأغذية المرتبطة بالعدوى الشيجلية، وتنتقل البكتريا المسببة لهذا المرض أيضاً عن طريق المياه الملوثة، وفى معظم الحالات كان متداولى الغذاء المصابون بالشيجيلا هم المسئولون عن تلوث الأغذية.

التسمم الغذائي بواسطة السموم الفطرية Food mycotoxicosis

تتعرض الأغذية إلى الإصابة بأنواع معينة من الفطريات التي تفرز مواد عضوية هى نواتج تمثيلها الغذائي، والتي غالباً ما تكون سامة للإنسان والحيوان والنبات والكائنات الحية الدقيقة الأخرى، ويطلق على هذه النواتج السموم الفطرية Mycotoxins ، وتعتبر كل السموم الفطرية ضارة وبعضها قاتل من خلال تأثيراتها السرطانية أو التشويهية لما تحدثه من طفرات غير حميدة وما يعقبها من تشوهات خلقية وتحدث اضطرابات في الدورة الدموية ونزيف من الفتحات الطبيعية وتحت الجلد ومع البراز، ويطرأ على المريض فقدان الشهية وعسر الهضم أو الإسهال أو الهزال وفقدان الوزن والجفاف، يصل السم الفطري إلى الإنسان عن طريق تناوله لأغذية ملوثة مباشرة بالسموم الفطرية مثل الحبوب والياميش والفواكه وعصائرها ومشروبات السحلب والحلبة المطحونة والفول السوداني والسمسم وجوز الهند والأعشاب التي تباع لدى محلات العطارة والتي يصيبها الفطر لسوء تجفيفها وتخزينها، كما تصل السموم الفطرية إلى الغذاء بطريق غير مباشر نتيجة لإفرازها في الحليب والبيض أو كمتبقيات في اللحوم إذا تغذى الحيوان على عليقه ملوثة، كما قد

يتواجد السم في المواد المصنعة من منتجات ملوثة به لأن هذه السموم تقاوم الظروف التصنيعية المختلفة كالبسترة أو التحميص .

الأفلاتوكسينات Aflatoxins

تعتبر الأفلاتوكسينات من أشهر أنواع السموم الفطرية الذي إذا استهلك بكمية كافية فإنه يؤدى إلى الوفاة، وأن الجرعة المميتة له صغيرة جداً حيث تبلغ الجرعة القاتلة لسم الأفلاتوكسين 0.5 مليجرام/ كجم من وزن جسم حيوان التجارب، وأن هذه الجرعة قد أدت إلى موت حيوانات التجارب مثل الأرانب، وخنازير غينيا خلال ٧٢ ساعة، وحدث تحطم في خلايا الكبد ونزيف في الأمعاء، أما إذا استهلك بكمية أقل من الجرعة المميتة فإنه يؤدى إلى السرطان وخاصة سرطان الكبد، والأفلاتوكسينات مركبات شديدة السمية يتم إنتاجها من فطريات *Aspergillus flavus* وقد أعطى لهذه المركبات هذا الاسم بأخذ الحرف A من *Aspergillus* و Fla من *flavus* ثم إضافة Toxin للحصول علىAflatoxin وهى سموم ثابتة لدرجة الحرارة العالية، ومركبات الأفلاتوكسين تصيب الكبد، وتحدث السرطان والضمور والتليف والالتهاب والنزيف الداخلي في فراغ البطن، أو بداخل الجهاز الهضمي، وقد يحدث استسقاء، كما يؤثر الأفلاتوكسين على نشاط الإنزيمات، وعلى تركيب الدم، وعلى سرعة ترسيب الدم، وتلعب مركبات الأفلاتوكسين دوراً في إحداث الأورام الخبيثة للإنسان، تظهر أعراض الأفلاتوكسيكوزيس بالمخ مع يرقان وارتفاع ضغط الدم وتشنج وغيبوبة والموت بسبب نزيف بالمعدة والأمعاء، كما وجد الأفلاتوكسين فى كبد هؤلاء الأشخاص وكذلك فى كبد مرضى سرطان المستقيم وسرطان الكبد.

الأمراض التى تنتقل عن طريق الأغذية

Transmitted diseases via foods

إن نظم المراقبة الفعالة على المستوى القومي أساسية وضرورية لتحديد المشكلات في مرحلة مبكرة، وتعبئة الموارد اللازمة لتناول المشكلة، وإبلاغ المشكلة في الوقت المناسب، وتقدر منظمة الصحة العالمية WHO أنه في عام ٢٠٠٠ وحده مات ٢,١ مليون شخص من أمراض الإسهال، ويمكن أن يعزي نسبة كبيرة من هذه الحالات إلى تلوث الأغذية ومياه الشرب، وفي الدول الصناعية، فإن نسبة الأشخاص الذين يعانون من الأمراض التي تنتقل عن طريق الأغذية سنوياً تبلغ ٢٥ بالمائة أو أكثر، وعلى سبيل المثال، في الولايات المتحدة تقدر الأمراض التي تنتقل عن طريق الأغذية أنها تصيب ٧٦ مليون أميركي سنوياً، ويشكل تلوث الأغذية عبئاً اجتماعياً واقتصادياً ضخماً على المجتمعات وأنظمتها الصحية من حيث التكاليف الطبية والإنتاجية المفقودة على حد سواء، وتعرف منظمة الصحة العالمية المرض الذي ينتقل عن طريق الغذاء والذي يطلق عليه Food borne illness بأنه "مرض معدي أو تسمم يسببه أو يعتقد أنه يسببه تناول الغذاء أو الماء الذي يحتوى على أي مسبب للمرض ويصيب الإنسان أو الحيوان، ويمكن تقسيم الأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء إلى ما يلي :

أولاً: أمراض العدوى الغذائية Food infection diseases

وهى الأمراض التي تسببها كائنات دقيقة حية تتكاثر عادة في الغذاء وفى حالة تناول هذه الكائنات مع الغذاء بأعداد تكفى للتغلب على جهازه المناعي فإنه يصاب بعدوى غذائية، وتختلف الجرعة المسببة للمرض باختلاف نوع الميكروب.

ومن الكائنات الحية الدقيقة المسببة للعدوى التي تنتقل عن طريق الغذاء البكتريا والفيروسات والبروتوزوا والطفيليات وأكثر هذه الأنواع تسبباً في الأمراض الغذائية هي السالمونيلا والكامبيلوباكتر وبكتريا القولون البرازية المرضية، ومنها أيضاً الليستريا واليرسينيا والشيجيلا والكوليرا وأقلها تسببا في إحداث العدوى الغذائية هي

الفيروسات مثل فيروس الالتهاب الكبدي الوبائيA والبروتوزوا مثل ديدان الدوسنتاريا الأميبية والطفيليات مثل الدودة الشريطية.

ومن أمراض العدوى الغذائية:

١) العدوى بالسالمونيلا Salmonellosis
٢) العدوى بالشيجيلا Shigellosis
٣) العدوى ببكتريا القولون البرازية *E. coli*
٤) عدوى الكامبيلوباكتر Campylobacteriosis
٥) العدوى الليستيرية Listerosis
٦) العدوى باليرسينيا Yersinosis
٧) الفيبروسس Fibrosis
٨) العدوى البروسيلية Brucellosis
٩) العدوى بالدوسنتاريا الأميبية Amebic dysentery
١٠) أمراض الإنسان الفيروسية Human Virus diseases

العدوى بالسالمونيلا Salmonellosis

يطلق على المرض الذي تسببه جميع أنواع السالمونيلا "العدوى السالمونيلية" أو Salmonellosis ، وقد عرف الماء والأغذية الحيوانية كوسيلة لنقل هذا الميكروب، وتعتبر كل أنواع السالمونيلا ممرضة للإنسان، ومن المعروف أن السالمونيلا تموت على درجة حرارة ٦٠-٦٥°م لمدة ٣-٥ دقائق وبذلك فإن البسترة أو الطبخ تقضى عليها، ويسبب ميكروب السالمونيلا مرض الـ Salmonellosis ويسبب الميكروب المرض بتأثيره المباشر بدون إنتاج توكسين.

وتتوقف أعراض المرض من حيث الحدة على عدة عوامل منها:

- نوع السالمونيلا.
- عدد خلايا الميكروب التي تناولها الشخص
- مقاومة الشخص وحالته الصحية وعمره.
- نوع الغذاء.
- محتويات المعدة من الأغذية الأخرى.

وعموماً تكون الأعراض على شكل إسهال **Diarrhea** أو ألام معدية **Abdominal cramps** أو ارتفاع في درجة الحرارة **Fever** أو دوار **Nausea** أو قيئ **Vomiting** أو صداع **Headache** وقشعريرة **Chills** ولكن هناك عدة أعراض للمرض قد تحدث مجتمعة أو مفردة أو قد تحدث على مراحل.

انتقال السالمونيلا بواسطة الغذاء

يوجد أربعة مسببات لحالات تفشى العدوى السالمونيلية عن طريق الغذاء هي:

١) استخدام مواد خام ملوثة بالميكروب

وهذه من أهم وسائل نقل الميكروب وخاصة في الأغذية الحيوانية أو تلك التي تكون ملوثة بمواد برازية والتي لم تعامل معاملة حرارية كافية للقضاء على السالمونيلا، ومثال لذلك فإن مصانع الحلوى قد تضيف جوز هند على سطح الحلوى بعد تصنيع الحلوى جيداً وهنا قد يتسبب جوز الهند الملوث بالسالمونيلا في حالات تفشى غذائية.

٢) الاستخدام غير السليم للمعاملة الحرارية

يجب استخدام المعاملة الحرارية التي ستقتل السالمونيلا خلال التصنيع، والطبخ الكافي للأغذية في أماكن تقديم الغذاء،وعموما فإن درجة حرارة البسترة كافية للقضاء على السالمونيلا في الغذاء.

٣) التلوث بعد التصنيع

وهنا لابد من ضمان أن العاملين بمصانع الأغذية أو بتداول الأغذية يمارسون عادات صحية سليمة وتداول جيد للغذاء ومراقبتهم وتثقيفهم وتدريبهم على عدم تلويثهم للأغذية بعد تمام تصنيعها كما يجب التأكد من نظافة الأدوات والأواني المستخدمة والفصل بين المواد الخام والأغذية تامة الصنع لتجنب التلوث العرضي للأغذية، كما يجب الفصل بين مراحل التصنيع في المصنع.

٤) التخزين غير المناسب للغذاء

من الإجراءات التي يجب الاهتمام بها للتحكم في السالمونيلا هو عدم السماح لها بالنمو أثناء التخزين وذلك بالتبريد الجيد، ولذلك يجب خفض درجة حرارة

الغذاء إلى أقل من ٥°م وإلا فلابد من حفظ الغذاء ساخنا على درجة حرارة أعلى من ٦٠°م، ولذلك يمكن تقسيم الأغذية باعتبارها مصدراً للعدوى بالسالمونيلا من عدمه طبقاً لخصائص معينه تجعل هذه الأغذية مسببة للمرض من عدمه وهنا يمكن القول أنه يجب أن تتوافر ثلاثة خصائص في الغذاء لكي تجعله مسببا للمرض :

- أن تكون المادة الغذائية نفسها أو أحد مكوناتها مصدراً للسالمونيلا كالدجاج واللحوم والبيض .
- ألا توجد خطوة قاتلة للميكروب أثناء الإعداد والتجهيز والتصنيع كأن تكون درجة الحرارة غير كافية.
- تداول الغذاء بطريقة خاطئة مما يعرض الغذاء للتلوث .

فإذا اشتمل الغذاء على الخصائص الثلاثة يعتبر مصدر خطير للإصابة، فى حين إذا اشتمل الغذاء على اثنين منها يعتبر متوسط الخطورة، أما إذا اشتمل على خاصية واحدة من الثلاثة فلا يعتبر الغذاء مصدرا للخطر.

العدوى بالشيجيلا Shigellosis

تعتبر العدوى بميكروب الشيجيلا مشكلة في البلدان النامية نظراً لوجود الظروف غير الصحية،وتحدث العدى بالشيجيلا عن طريق تلوث الغذاء والماء بالمواد البرازية ويكون ذلك عن طريق الممارسات الصحية غير السليمة لمتداول الغذاء المصاب بالشيجيلا، ويعتبر الإنسان هو المصدر الرئيسي لهذا الميكروب ونادراً ما يوجد فى الحيوان، يعتبر جنس الشيجيلا هو السبب فى مرض العدوى الشيجلية والذي يطلق عليه الزحار الباسيلى Bacillary dysentery وأنواع الشيجيلا عموما لا تقاوم الحرارة حيث يمكن القضاء عليها على ٦٣°م لمدة خمس دقائق ، ودرجة الحرارة المثلى للنمو هي ٣٧°م وتستطيع تحمل pH 4-4.5 ولكن يمكنها البقاء لمدة ٣٠ دقيقة فقط على pH 3.5 ، وتتراوح أعراض الإصابة من إسهال متوسط إلى زحار شديد، وقد تشمل الأعراض برازاً دموياً مع مخاط وقيح وجفاف رحمي ورجفة وتسمم دموي وتقيؤ، وتتراوح فترة الأعراض من يوم إلى سبعة أيام ، ولكن عادة ما تكون الفترة أقل من أربعة أيام، ويستمر المرض من بضعة أيام إلى أسبوعين.

انتقال الشيجيلا بواسطة الغذاء

يعتبر الإنسان والثدييات الراقية هي المصادر المعروفة للشيجيلا، وتوجد الميكروبات بالجزء الأسفل من القناة الهضمية للشخص المصاب أو الحامل للمرض وتخرج مع البراز، وعادة تفرز الشيجيلا في براز الأصحاء الناقهين والحاملين للمرض لمدة من٣-٥ أسابيع بعد اختفاء الأعراض وقد يستمر البعض لمدة تصل إلى خمسة شهور، ويعتبر متداولى الغذاء الذين لا يمارسون النظافة الشخصية من أهم العوامل المسببة لتفشى هذا المرض، كما أن التبريد غير المناسب للغذاء الملوث يساهم في حالات التفشي، ومن المحتمل أن يكون الذباب ناقلا للعدوى بالشيجيلا من البراز إلى الغذاء، وتحدث معظم حالات التفشي المعروفة من الأغذية التي أسيئ تداولها في مؤسسات الخدمة الغذائية.

وتعتبر السلطات الخضراء من أكثر الأغذية المرتبطة بالعدوى الشيجلية فحوالي ثلثي حالات التفشي الغذائية مرتبطة بتناول السلطات خاصة تلك المرتبطة بالبطاطس والتونة، وتعد أيضاً الخضر الورقية والخس واللبن الحليب ومنتجاته ولاسيما الجبن الطرية والأيس كريم واللحوم الملوثة وبعض منتجات المخابز والهمبرجر والمحار النيئ والبطيخ وفطائر القشدة من أهم أنواع الأغذية المرتبطة بالعدوى الشيجلية.

وتنتقل البكتريا المسببة لهذا المرض أيضا عن طريق المياه الملوثة، وفى معظم الحالات كان متداولى الغذاء المصابون بالشيجيلا هم المسئولون عن تلوث الأغذية.

العدوى ببكتريا القولون *Escherichia coli*

تعتبر ميكروبات الـ *E. coli* من الميكروبات الطبيعية للقناة المعوية للإنسان ومعظم الحيوانات ذوات الدم الحار، وتسمى بكتريا القولون **Coliforms** ، ونظراً لأنها تتخذ القناة الهضمية السفلى مكاناً طبيعياً لها لذلك فهي توجد عادة في البراز، ويقدر عددها فى البراز بمئات الملايين لكل جرام الأمر الذي أدى إلى اتخاذها كمؤشر لمدى تلوث الغذاء من عدمه بفضلات الإنسان والحيوان البرازية.

وبالرغم من أن معظم سلالات الـ *E. coli* ليست ممرضة إلا أنه ظهرت بعض السلالات الممرضة التي أطلق عليها السلالات المعوية المرضية التي سببت

الكثير من حالات التسمم في شتى أنحاء العالم وخاصة في الدول النامية وقد حدثت بعض حالات التفشي التي ظهرت على هيئة إسهال لأطفال رضع فى حضانات المستشفيات أو حالات إسهال المسافرين التي تشبه أعراض الكوليرا نتيجة لإفرازها بعض السموم المعوية بعد أن أدت السلالة *E. coli* 0157: H7 إلى معدل وفيات عالي جداً، وتسبب بكتريا القولون السامة قشعريرة وحمى وتقلصات في منطقة البطن وزحار وهى شبيهة بسلوك ميكروب الشيجيلا، وهى تطلق سموم في الأمعاء الدقيقة محفزة تدفق السوائل وتشابه أعراضه أعراض الكوليرا وهى إسهال مائي وجفاف وصدمة محتملة وتقيؤ أحيانا .

أما ميكروب *E. coli* O157: H7 فأعراضه براز مختلط بالدم كما تسبب فشل كلوي عند الأطفال ويحتاج المريض غسيلاً كلوياً وقد تبقى المعاناة مزمنة وقد يدخل الطفل فى غيبوبة ثم يموت، ويقتل هذا المرض المسنين والأطفال ، كما قد يسبب تلف في المخ ولذلك فإن معدل الوفاة عالي جداً ولكنه نادر الحدوث، ولذلك تشكل بكتريا *E. coli* O157: H7 خطراً حقيقيا لأنها تفرز سموم قاتلة.

انتقال بكتريا القولون المعوية الممرضة بواسطة الغذاء

حدثت حالات تفشى لمرض العدوى ببكتريا القولون المعوية الممرضة في أمريكا وبريطانيا نتيجة شرب ماء بئر غير معامل بالكلور وملوث بفضلات الإنسان، ويعتبر الإنسان المصاب هو المصدر الأساسي لبكتريا القولون المخترقة للأمعاء، ولقد ارتبطت بعض حالات التفشي بالتغذية على السالمون والدواجن والحليب وجبن الكممبرت، كما ارتبطت السلطات لخضراء المحتوية على خضروات نيئة وفطائر اللحم المفروم والدواجن والمخبوزات بميكروبات القولون المعوية السامة .

ويوجد ثلاثة شروط لكي تحدث الإصابة بميكروبات القولون السامة هى:

- أن يتواجد الميكروب السام في الغذاء .
- أن يبتلع العائل عدوى كافية من الميكروب (١٠ ^٦^ أو أكثر/ جرام).
- أن يلامس الميكروب الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة.

الفصل الثامن

ميكروبيولوجيا التخمرات

يقصد بالتخمرات الميكروبية (الصناعات التخميرية) استخدام الميكروبات تحت ظروف هوائية أو لاهوائية محكمة، لإنتاج مواد نافعة ذات قيمة اقتصادية على النطاق التجاري، ولقد بدأت الأنظار تتجه إلي أهمية الدور الذي تلعبه الميكروبات لإنتاج هذه المواد منذ الدراسات التى بدأها العالم لويس باستير عن التخمرات في النصف الثاني من القرن التاسع عشر عندما استخدمت البكتريا لإنتاج الأسيتون والبيوتانول خلال الحرب العالمية الأولى واستخدمت الفطريات والأكتينوميسيتات(الأكتينوبكتريا) لإنتاج المضادات الحيوية خلال الحرب العالمية الثانية ثم تلى ذلك تطور كبير فى مجال التخمرات الميكروبية أو ما يسمى بالصناعات التخميرية.

ويوجد اليوم العديد من الشركات التي تنتج الكثير من المواد الكيماوية والحيوية ذات الأهمية الطبية والاقتصادية والتجارية الكبيرة مثل إنتاج الكحولات والأحماض العضوية والأمينية والمضادات الحيوية والإنزيمات والفيتامينات والدكستران والبوليمرات وغيرها عن طريق الصناعات التخميرية .

ومن وجهة النظر الصناعية فإن الميكروب عبارة عن مصنع كيميائى قادر على إحداث تغيرات مرغوب فيها فى الوسط الذى يعيش فيه، فالميكروبات بما تفرزه من إنزيمات تؤثر على المواد الخام رخيصة الثمن والتى هى جزء من البيئة التى تنمو عليها وتحولها إلى نواتج جديدة نافعة ، فإذا ما فصلت هذه النواتج من البيئة الجارى تخميرها فإننا نحصل على تلك المواد النافعة والتى لها أهميتها الاقتصادية والتجارية,

وتضم الكائنات الحية الدقيقة من بكتريا وأكتينوميسيتات وفطريات وخمائر وطحالب علي العديد من الميكروبات التي تستخدم علي نطاق تجاري في الصناعات التخميرية المختلفة والتي تشمل ما يلي :

١ -الإنتاج الكمي للخلايا

المقصود بالإنتاج الكمي للخلايا هو إنتاج خلايا من الميكروب غنية بالبروتين

والذي يسمي بالبروتين وحيد الخلية أو البروتين الطحلبي والذي يستخدم كغذاء للإنسان أو كعلف للحيوان أو في إنتاج الليبيدات أو في إنتاج فيتامينات مجموعه B المركبة أو إنتاج خميرة الخباز.

٢-إنتاج مواد من التحولات الغذائية للميكروبات

وهي تتكون عادة في الطور اللوغاريتمي من مراحل نمو الميكروب وذلك في مزارع الدفعة الواحدة أو في المزارع المستمرة عندما يكون معدل النمو في أقصي حالاته ولها دور واضح في التحولات الغذائية للخلية ونموها وهي تحدث في الغالبية العظمي من الميكروبات مثل إنتاج الكحول الإيثيلي الذي يستخدم كمطهر أو في الصناعات الدوائية والجليسرول وحمض الخليك واللاكتيك وحمض الستريك.

أنواع المنتجات الميكروبية Types of microbial products

تصنف المنتجات الميكروبية التي تنتج باستخدام تكنولوجيا الصناعات التخميرية تحت أقسام عديدة أهمها:

١- مواد وإضافات غذائية : حيث تستخدم الميكروبات لإنتاج البروتين والأحماض العضوية والأمينية التى تستعمل كإضافات غذائية، وذلك بالإضافة إلي الدور التى تلعبه الخميرة في صناعة الخبيز.

٢- الكحولات :ويعتبر إنتاج الإيثانول والبيوتانول والجليسرول من أهم الكحولات التي تنتج بكثرة علي النطاق التجاري بواسطة الميكروبات.

٣- مواد صناعية مثل أحماض الستريك والخليك واللاكتيك والمذبيات العضوية كالأسيتون والإنزيمات مثل البروتينيز والاميليز والليبيز.

٤- مواد صيدلانية :من أهم هذه المواد المضادات الحيوية ويجرى الأن إنتاج مواد أخرى مثل الأنسولين ، والدكستران الذي يستخدم كبديل لبلازما الدم.

٥- مواد بيولوجية : كالفاكسينات ، ومضادات السيرم.

الاحتياجات اللازمة للصناعات التخميرية

يعتمد نجاح الصناعات التخميرية على توفير بعض الاحتياجات ومن هذه الاحتياجات ما يلى:

أ-السلالة الميكروبية Microbial strain

الميكروبات المستخدمة فى الإنتاج الصناعى كثيرة ومتعددة، وتعتبر هذه الميكروبات سلالات منتخبه من الفطريات والخمائر والبكتريا كما تستخدم الفيروسات على نطاق تجارى لإنتاج اللقاحات (الفاكسينات) .

الشروط الواجب توافرها فى الميكروب المستخدم في الصناعات التخميرية

١-أن يكون قادر على إنتاج المادة المطلوبة بكمية كبيرة.

٢-أن يكون الميكروب ذو صفات وراثية ثابتة.

٣-أن يكون الميكروب ذو قدرة سريعة علي النمو.

٤-أن يكون الميكروب غير ممرض.

ومما هو جدير بالذكر أن السلالة التي تم انتخابها يجب أن يحافظ على نشاطها ونقاوتها بالنقل على فترات إلي البيئة المناسبة مع التحضين حتى تصل المزرعة إلي الطور الثابت ثم التخزين على درجة حرارة منخفضة كافية لإيقاف النمو وعند الاستعمال يعاد تنشيط المزرعة، كما يحتفظ بنماذج من السلالة المنتخبة لمدد طويلة بالحفظ فى الثلاجة تحت زيت برافين أو الحفظ بالتجفيد لاستخدام تلك السلالات عند اللزوم وذلك لتقليل احتمال التغيرات التى تحدث مع تكرار نقل وتنمية هذه السلالات، ولأهمية السلالة الميكروبية فى الإنتاج فإن الكثير من المصانع تحتفظ لنفسها بالسلالة التى توصلت إليها وتعتبرها سرا من إسرارها الصناعية.

ب-البادئ Starter (inoculum)

عادة ما يضاف البادئ إلي بيئة التخمير بنسبة ٥ - ١٠ ٪ من حجم البيئة ونظرا لكبر حجم بيئة التخمير المستعملة فإن كميات كبيرة من اللقاح يجب أن تجهز باستمرار، ويتطلب توفير الكمية المطلوبة من اللقاح إجراء ٤ – ٥ مراحل من الإكثار بدءا من المزرعة الموجودة بأنبوبة الاختبار ويتم ذلك بالنقل المتكرر والتحضين تحت

الظروف المناسبة إلي أن يصل حجم اللقاح إلي الكمية المطلوبة وتتطلب هذه العملية دقة كبيرة حيث ينتج لقاحا نشطا خاليا من التلوث وإلا حدثت خسائر كبيرة فى الإنتاج .

ج- المواد الخام Raw materials

المواد الخام المستخدمة بما فى ذلك المواد الأساسية التى تتميز السلالة الميكروبية المنتخبة بقدرتها العالية علي تمثيلها ويفضل استخدامها في صورة مواد خام رخيصة الثمن سواء كانت صناعية أو زراعية.

من أمثلة هذه المواد الأساسية التي تستخدم بكثرة في مجال الصناعات التخميرية :

- المولاس الناتج من مخلفات صناعة السكر.
- الشرش الناتج من مخلفات مصانع الألبان.
- سائل منقوع الذرة الذي ينتج من مخلفات صناعة النشا.
- سائل السلفيت الذي ينتج من مخلفات مصانع الورق.

ويفضل أن تكون البيئة المستعملة بيئة منتخبة أو منتقاة لتكون أكثر ملائمة لنمو الميكروب عن غيره من الميكروبات المنافسة, كما فى حالة استعمال بيئة حمضية لتنمية الخميرة والفطريات، وفى بعض العمليات التخميرية قد تعقم البيئة أو تبستر قبل تلقيحها بالبادئ للتخلص من الميكروبات الملوثة، ومن الجدير بالذكر أن اختيار البيئة الملائمة للتخمير تعتبر من أهم العوامل اللازمة لنجاح عملية التخمر على المستوى الصناعي ، ذلك لان البيئة الغذائية المناسبة تمد الميكروبات بالمواد الغذائية اللازمة للنمو والطاقة وبناء الكتلة الخلوية وكذلك التخليق الحيوى لنواتج التخمر.

الشروط الواجب توافرها في البيئة الغذائية

١- يجب أن تحتوى البيئة الغذائية على مصدر كربون مناسب للميكروب وللمادة المراد إنتاجها.

٢- يجب أن تحتوى على مصدر نيتروجين مناسب لنمو الميكروب.

٣- يجب أن يتوفر بها مصدر مناسب للطاقة.

٤- يجب أن تحتوى على مواد خام متوفرة ورخيصة الثمن.

٥- يجب أن تكون البيئة سهلة التعقيم.

وقد يتفاوت التركيب الخاص من تركيب بسيط إلى معقد تبعا لنوع الكائن الحى الدقيق وكذلك تبعاً لتخمره، حيث نجد أن الميكروبات ذاتية التغذية تحتاج إلى بيئات غذائية بسيطة التركيب كالأملاح والماء ومصدر للنيتروجين ، حيث أنها قادرة على استيفاء احتياجاتها من الكربون من ثاني أكسيد الكربون الجوى أو من أملاح الكربونات .

وعلى النقيض من ذلك نجد أن بعض الميكروبات الأخرى تحتاج إلى وجود أنواع عديدة من المواد الغذائية المصنعة البسيطة والمعقدة فى البيئة ، وكذلك يجب أن يكون لها إمداد من الكربون العضوى للاستفادة منه في تخليق المادة الخلوية ولتحرير الطاقة الأيضية.

وتقسم البيئات الغذائية البسيطة والمعقدة إلى بيئات تركيبة وبيئات طبيعية ، والبيئة التركيبة هى التى تكون جميع مكوناتها معروفة على وجه التحديد ، وعادة لايعتبر تكوين الرغوة مشكلة فى البيئات التخليقية لكونها لا تحتوى على أى بروتين أو ببتيدات بجانب أن عملية استرجاع وتنقية نواتج التخمير بسيطة نسبيا فى مثل هذه البيئات وذلك لعدم وجود مركبات عضوية فى البيئة الغذائية.

وبالرغم من هذه المميزات فان البيئات التركيبة قليلة الاستخدام صناعيا نظرا لارتفاع تكليف مكوناتها النقية بالنسبة للناتج المتحصل علية من عملية التخمير ، لذلك تستخدم البيئات الخام (غير التخليقية) مثل استخدام البيئات التى تحتوي على مسحوق فول الصويا، المولاس ، ماء نقيع الذرة وعليه فان البيئات الطبيعية تحتوى على مصادر خام غير معروفة التركيب تماما وتوفر معظم عوامل النمو للكائنات الحية الدقيقة ، حيث تكون مصادر الكربون والنيتروجين والخام فى مثل هذه البيئات

فى صورة يمكن للكائنات الحية الدقيقة تمثيلها بواسطة الإنزيمات المحللة التى تفرزها فى البيئات الغذائية وسوف نلقي نظرة بسيطة عن أهم المواد الخام التى تستخدم بكثرة فى مجال الصناعات التخميرية .

أولاً: مصادر الكربون

١ - المولاس Molasses

يعتبر المولاس من أهم النواتج الثانوية لصناعة السكر سواء من القصب أو البنجر ، وعندما يستخدم المولاس كأحد مكونات بيئة التخمير يكون محتوى على حوالى ٥٢٪ من السكريات ، وبالإضافة إلى احتواء مولاس القصب أو البنجر على السكروز فإنه يحتوى على مواد نيتروجينية بسيطة ومعقدة وأحماض عضوية وعوامل نمو وفيتامينات وأملاح معدنية خصوصا الكالسيوم والفوسفور.

جدول(٨-١): مكونات مولاس قصب السكر والبنجر.

المكونات ٪	مولاس القصب	مولاس البنجر
الوزن الجاف	٨٥,٠-٧٨,٠	٨٥,٠-٧٨,٠
الكربوهيدرات الكلية	٥٨,٠-٥٠,٠	٥٨,٠-٤٨,٠
N	٠,٥-٠,٠٨	٢,٨-٠,٢
P_2O_5	٠,٠٧-٠,٠٠٩	٠,٠٢-٠,٠١
CaO	٠,٨-٠,١٥	٠,٧-٠,١٥
MgO	٠,٨-٠,٢٥	٠,١-٠,٠١
K_2O	٢,٢-٠,٨	٤,٥-٢,٢
SiO_2	٠,٣-٠,٠٥	٠,٥ -٠,١
Al_2O_3	٠,٠٤-٠,٠١	٠,٠٦-٠,٠٠٥
Fe_2O_3	٠,٠١-٠,٠٠١	٠,٠٢-٠,٠٠١
C	٣٣,٠-٢٨,٠	٣٤,٠-٢٨,٠
الرماد	٧,٥-٣,٥	٨,٠-٤,٠

٢- الشعير ومنتجاته Barely and its products

يعتبر الشعير ومنتجاته مصدر كربون شائع الاستخدام خاصة فى صناعة البيرة وإنتاج الخميرة ومنتجات الشعير مثل المولت Malt والورت Wort ومستخلص المولت .

جدول(٨-٢): محتوى الشعير من السكريات .

الكربوهيدرات	الوزن الجاف (مجم/جم)
جلوكوز	٠,٩٣-٠,٢
فركتوز	١,٥٩-٠,٣
مالتوز	١,٣٥-٠
سكروز	١٦,٩-٣,٤
رافينوز	٨,٣٢-١,٤
كيتوز	٤,٣٢-٠,٧
فراكتوزان	
- ذائبة في الكحول	٥,٣٦-٠,٩
- ذائبة في الماء	٩,٠-٠,٤

٣- مخلفات صناعة الورق Sulphite waste liquor

ينتج هذا المحلول الكبريتيدى من صناعة لب الورق من الخشب بعد هضم الخشب لتحويله إلى لب سيليولوزى وذلك بواسطة كبريتيد الكالسيوم باستخدام الحرارة والضغط ، وتمثل اللجنوسلفونات حوالى ٢٠٪ من المادة العضوية للمحلول كما يحتوى على كمية مناسبة للعمليات التخميرية من السكريات الأحادية ، لذلك يمكن استخدام هذا المحلول كبيئة تخمر مخففة في إنتاج الكحول بواسطة *Saccharomyces cerevisiae* وفى إنتاج البروتين وحيد الخلية وذلك بواسطة تنمية خميرة *Candida utilis* واستخدام الناتج فى تغذية الحيوانات ويحتوى المحلول الكبريتيدى المتخلف على ١٠-١٢٪ مواد صلبة ، تشكل السكريات حوالى ٢٠٪ أى أنه يحتوى على ٢٪ سكر تقريباً ، وتشمل هذه السكريات هكسوزات مثل

D – جلوكوز ،D– جالاكتوز ، D– مانوز وبنتوزات مثل D –زيلوز ، L– أرابينوز, ومع ذلك فان الكميات النسبية في هذه السكريات الموجودة فى المحلول الكبريتيدى تتوقف على درجة هضم الخشب ، ونوعية السكريات الموجودة مهمة جدا لنوع الميكروب الذي يستخدم فى التخمير حيث أن ***Saccharomyces cerevisiae*** تستخدم فقط السكريات السداسية في حين يمكن لسلالة الخميرة ***Candida utilis*** أن تخمر كلا من السكريات الخماسية والسداسية، ويجب أن ننوه إلى أن سكريات هذا المحلول لا تتخمر مباشرة حيث ينبغي إزالة ثاني أكسيد الكبريت الحر من هذا المحلول أولا قبل إجراء التخمير وتتم عملية الإزالة هذه إما بواسطة الانتزاع بالبخار أو بواسطة المعادلة والترسيب باستخدام الجير أو كربونات الكالسيوم.

٤- الزيوت النباتية Plant oils

تستخدم الزيوت النباتية كمصدر للكربون فى بعض الصناعات التخميرية خاصة التخليق الحيوى للمضادات الحيوية ، وغالباً ما تستخدم الزيوت النباتية في إزالة الرغاوى التى تتكون أثناء عملية التخمير.

٥- الشرش Whey

يمكن استخدام الشرش في بعض الصناعات التخميرية مثل إنتاج الكحول الإيثيلى ، إنتاج البروتين وحيد الخلية باستخدام بعض أنواع الخمائر.

جدول (٨-٣):التركيب الكيميائي للشرش السائل.

المكونات	٪ (وزن/ حجم)
ماء	٩٣,١
بروتين	٠,٩
دهن	٠,٣
لاكتوز	٥,١
رماد	٠,٦

٦- الهيدروكربونات Hydrocarbons

تختلف الكائنات الحية الدقيقة في قدرتها علي تمثيل الهيدروكربونات ، بينما بعض البكتريا تتميز بقدرتها على تمثيل معظم الهيدروكربونات وهناك عدد محدود من الخمائر يمكنها تمثيل هذه المواد ويعتبر n- ألكان من أحسن مصادر الهيدروكربونات ويمكن تقسيمها إلى مجاميع تبعاً لعدد ذرات الكربون.

- (C_1–C_9) n–alkanes

يعتبر الميثان من أشهر مفردات هذه المجموعة من ناحية الاستخدام ويرجع ذلك إلى عدم احتياجه للتقطير بمقارنته بالمواد الخام الأخرى ، ويمثل الميثان بواسطة العديد من البكتريا وقليل من الخمائر.

- (C_{10}–C_{20}) n–alkanes

تمثل هذه المجموعة أنسب مصادر الكربون لنمو الميكروبات حيث تمثل عن طريق البكتريا والخمائر والأكتينوميسيتات والفطريات.

- C_{20} فأكثر n–alkanes

يعتبر تمثيل هذه المواد بطيئا مقارنة مع المجاميع الأقل عددا ويرجع ذلك لعدم وجودها على الصورة السائلة عند درجة حرارة الغرفة.

ثانياً : مصادر النيتروجين Nitrogen sources

تستطيع الخميرة أن تستخدم العديد من مصادر النيتروجين غير العضوية مثل سلفات الأمونيوم وفوسفات الأمونيوم ثنائية الهيدروجين والتى تستخدم كمصدر للإنتاج الخميرة ، كذلك تستخدم اليوريا فى بعض الصناعات التخميرية، أما عن مصادر النيتروجين العضوية التي تستخدم بكثرة في الصناعات التخميرية ماء نقيع الذرة ومستخلص الخميرة ودقيق فول الصويا وماء البطاطس.

١- ماء نقيع الذرة Corn steep liquor

هو عبارة عن المستخلص المائي الثانوي الذى ينتج من نقع الذرة خلال إنتاج نشا الذرة والجلوتين إذ يركز ماء النقيع الناتج إلى حوالى ٥٠٪ مواد صلبة ، ويستخدم وقد استخدم هذا المنتج بكثرة في إنتاج البنسيلين ويتطلب استخدام ماء

نقيع الذرة وجود كربونات الكالسيوم بنسبة معينة وذلك لضبط pH البيئة عند المستوى المناسب لنمو الكائنات الحية الدقيقة أثناء عملية التخمير.

جدول (٨-٤):التركيب الكيميائي لنقيع الذرة.

المحتوى	٪	المحتوى	٪
ماء	٤٥-٥٥	Cu	٠-٠,٠٠١
نيتروجين كلي	٢,٧-٤,٥	Fe	٠,٠١-٠,٠٥
نيتروجين أمينى	١,٠-١,٨	Mg	٠,٠٥-١,٠
مواد مختزلة	٠,١-١١,٠	Mn	٠,٠٠٤
لاكتيك	٥,٠-١٥,٠	P	٢,٠-٣,٠
رماد	٩,٠-١٠,٠	K	١,٠-٢,٠
أحماض طيارة	٠,١-٠,٣	S	٠,٣٤
SO_2	٠,٠٠٩-٠,٠١٥	Zn	٠,٠٥
Ca	٠,٥-١,٥		

٢- مستخلص الخميرة Yeast extract

يتم تحضير مستخلص الخميرة عن طريق التحلل الذاتي لخميرة الخباز أو خميرة البيرة ، تتم عملية التحلل الذاتى فى وعاء كبير وفى وجود التقليب المستمر والزيادة التدريجية فى درجة الحارة حتي تصل إلى ٥٠ درجة مئوية حيث تثبت درجة الحرارة عند ٥٠ لعدة ساعات ، ثم ترفع درجة الحرارة أعلي من ٧٥ بعد عملية التحلل الذاتى لوقف نشاط الإنزيمات تنقل الخميرة بعد ذلك فى أوعية تحتوى على محلول كلوريد الصوديوم من أجل حدوث التحلل البلازمي ثم تمم عملية الترشيح أو الطرد المركزي لاستبعاد الجدار والغشاء الخلوى ثم يركز الناتج تحت درجة حرارة أقل من ٣٧ لمنع حدوث تلوث وللحفاظ على المحتويات التى لا تتحمل درجة الحرارة العالية.

جدول (٨-٥): مكونات مستخلص الخميرة.

المحتوى	مجم/جم	المحتوى	مجم/جم
النيتروجين الكلي	٧٥-١٠٥	كالسيوم	٠,١
النيتروجين الأمينى	٣٤-٤٨	حديد	٠,٠٥
كلوريدات(Nacl)	٠,٧-١٣	ماغنسيوم	٢
الوزن الجاف	٣٠٠	نحاس	٠,٠٥
P_2O_5	٣٨	زنك	٠,٠٥
كربوهيدرات	٨٢	منجنيز	٠,٠٠٥
صوديوم	٥٦	كوبلت	٠,٠٠٥
بوتاسيوم	٣٠		

٣- دقيق فول الصويا soybean flour

يعتبر دقيق فول الصويا مصدر هام للنيتروجين ويستخدم فول الصويا عند إنتاج المضاد الحيوى كلوروتتراسيكلين.

جدول(٨-٦): التركيب الكيميائي للدقيق فول الصويا.

المحتوى	٪
بروتين	٤٤-٤٧
دهون	٠,٥-١,٢
سليولوز	٥,٥-٦
نيتروجين ذائب غير مرتبط	٣١-٣٢
رماد	٥,٥-٦
كالسيوم	٠,٣
فوسفور	٠,٦٢-٠,٦٥
فوسفاتيدات	٢-٢,٥

٤- ماء البطاطس Potato water

عبارة عن السائل الناتج من هرس لب البطاطس إثناء إنتاج النشا حيث يكون عرضة للسلفرة والتخمر اللاكتيكي بواسطة بكتريا *L.delberueckii*.

جدول(٨-٧): مكونات ماء البطاطس قبل وبعد التخمر اللاكتيكى.

المحتوى ٪	بعد تخمر لاكتيكي	بدون تخمر لاكتيكى
الوزن الجاف	٥٢,٥	٧٢,٧
النيتروجين الكلي	٦,٠	٥,١
النتروجين الأمينى	٢,٤	١,٩
المواد المختزلة	١٢,٥	٢٧,٥
حمض اللاكتيك	٩,٧	٥,٠
رماد	٢٢,٢	٢٠,٨

ثالثاً: العناصر الغذائية الأخري وعوامل النمو

يعتبر الفوسفور والماغنسيوم من أهم المكونات للبيئة الغذائية وذلك نظرا لاشتراكه في تفاعلات الطاقة وتحتوى الكائنات الدقيقة على Ca,K,S,Na مما يستلزم إضافتها إلى البيئة وبالنسبة للعناصر النادرة مثل الحديد والكوبالت والنحاس والزنك يجب إضافتها فى حالة ما إذا كانت البيئة الغذائية فقيرة فى العناصر.

أما بالسبة لعوامل النمو الفيتامينات مثل الثيامين والريبوفلافين وحمض النيكوتينيك وحمض البانتوثينك والبيريدوكسين والبيوتين والإينوسيتول والكولين جميعها ضرورية لنمو الميكروبات حيث توجد بصور طبيعية فى مكونات بعض المواد الخام التى تستخدم في الصناعات التخميرية حيث يوضح الجدول التالى محتوى الفيتامينات في بعض المواد الخام التى تستخدم في هذا المجال .

جدول(٨-٨): محتوى الفيتامينات لبعض المواد الخام التى تستخدم فى التخمرات.

السيلاج	مستخلص الخميرة	مولاس القصب	مولاس البنجر	دقيق فول الصويا	الشعير	دقيق الذرة	الفيتامين µg/ جم
3,5	10	0,8	0,8	13,5	6,5	4,5	Thiamine
11,9	20	-	-	3,5	1,2	0,9	Riboflavin
75,8	400	15,0	35,0	25,2	115,0	23,0	Nicotinic acid
10,8	50	20,0	50,0	26,1	4,4	4,6	Pantothenic acid
1,0	25	-	-	8,5	11,5	6,9	Pyridoxine
0,3	1	1,5	0,1	0,7	-	0,1	Biotin
7170	1500	2000	5000	3850	-	-	Inositol
3080	1500	-	-	2880	1100	-	Choline

رابعاً : مضادات الرغاوى Antifoam agents

غالبا تظهر الرغاوى مصاحبة للعمليات ميكروبيولوجية وخاصة فى البيئات الطبيعية الغنية فى محتواها من ماء نقيع الذرة ودقيق فول الصويا ، حيث يؤدي عدم التحكم فى الرغاوى إلى فقد كميات من البيئة الغذائية وكذلك المنتج هذا بالإضافة إلى تلوث محتويات البيئة التخميرية ، للتغلب على هذه المشكلة تضاف مضادات الرغاوى تقلل من التوتر السطحى للسوائل.

ومن المواد التي تستخدم بكثرة فى هذا الصدد زيوت فول الصويا، الشلجم ، جوز الهند، عباد الشمس ، الخروع ويجب التنويه إلى أنه يوجد بعض الميكروبات ذات مقدرة على تمثيل مثل هذه الزيوت وبالتالى استهلاكها مما يستلزم إضافتها بصورة مستمرة على دفاعات ، ومن المواد الأخري التى يمكن أن تستخدم كمضادات للرغاوى الكحولات ، ومن أشهرها Octadecanol حيث يضاف إما فى صورة نقية أو مرتبطة مع Lard oil أو زيوت معدنية حيث يستخدم على الصورة الأولى عند الإنتاج الحيوى للبنسلين بينما يستخدم على الصورة الثانية عند إنتاج حمض الستريك.

د- الظروف المزرعية Cultural conditions

أثناء عملية الإنتاج يجب توفير كل الظروف الغذائية والبيئة اللازمة للنمو ونشاط الميكروب المستخدم سواء من مواد غذائية، pH ، رطوبة ، حرارة، تهوية (هوائى أو لا هوائى) ، تقليب ، معادلة أو إزالة المواد التى توقف التخمر.

هـ- المنتج Product

يتم التخمير في مخمرات كبيرة الحجم كما في الشكل وفيها تتكون المادة المطلوبة مختلطة مع الميكروبات ومع نواتج أخري عديدة ونحصل على المادة المطلوبة باستخدام طرق الاستخلاص والتنقية المختلفة ويشترط فى هذه الطرق أن تكون مناسبة ، سهلة ، سريعة، اقتصادية.

طرق تنمية الميكروبات أثناء العمليات التخميرية

أولاً: التنمية ذات الدفعة الواحدة (المتقطع) Batch cultures

فى التخمر المتقطع يملأ المخمر بالبيئة الغذائية المناسبة لإنتاج المادة الحيوية المطلوبة, تلقح البيئة الغذائية بالميكروب المناسب بالكمية المناسبة (البادئ)، ثم تضبط ظروف التخمر البيئية من pH ، وحرارة، وتهوية، بعد انتهاء عملية التخمير تسحب محتويات المخمر للحصول على المنتجات ثم يعاد تنظيف المخمر ويملأ من جديد البيئة الغذائية وتكرر عملية التخمير ، ويلاحظ أن الإنتاج في هذا النوع من التخمير يكون على دفعات .

يتم في هذه الطريقة تلقيح الميكروب في البيئة الغذائية المناسبة والمحتوية على جميع المواد الغذائية اللازمة للنمو ثم يحضن تحت الظروف المثلي لتكاثر الميكروب ، وبعد فترة التحضين لملائمة يتم فصل الخلايا إما بالترشيح أو بالطرد المركزى ويلاحظ فى هذه الطريقة أن جميع المواد الغذائية تضاف إلى البيئة فى البداية أى قبل تلقيح الميكروب ، وفي نهاية فترة التحضين يتم الحصول على الخلايا كدفعة واحدة ويطلق عليها النظام المغلق وتقسم هذه الطريقة تبعا لنوع الميكروب المراد تنمية إلى :

١-مزارع ثابتة Static cultures

ويتم فيها تنمية الميكروب في دوارق أو أوعية خاصة محتوية على البيئة الغذائية ثم تحضن على درجة الحرارة المناسبة بدون رجها ، وتستخدم هذه الطريقة عادة فى تنمية الفطريات لغرض الحصول على جراثيم أو حصيلة من النمو وحيث أن الفطر هوائي فانه ينمو مكونًا عديد من الهيفات التى تتجمع مع بعضها على سطح البيئة ويخرج منها الحوامل الجرثومية إلى أعلى حامله عديدا من الجراثيم ، ويلاحظ أن عملية الرج أو اهتزاز الدوارق تؤدى إلى سقوط النمو وغمره فى البيئة وبالتالى تؤدى إلى عدم تكوين جراثيم مع قله النمو لعدم توفر الأكسيجين اللازم لأكسدة المواد الكربوهيدراتية فى البيئة الغذائية وقد تسمى هذه الطريقة بالمزارع السطحية وهى تحتاج إلى مساحات كبيرة للحصول على كمية النمو المطلوبة ولكنها تتميز بعدم احتياجها إلى هواء مضغوط لعملية التهوية أو قوة ميكانيكية لعملية الرج.

٢-مزارع مهتزة Shake cultures

فى هذه الطريقة توضع البيئة الغذائية بجميع مكوناتها فى دوارق وتلقح بالميكروب ثم تحضن على جهاز الرج ذو السرعات المخلفة ، وتؤدى عملية الرج إلى ذوبان أكسجين الهواء الجوى فى البيئة وتوزيعه بتجانس فى الوسط كله وفى نفس الوقت يتم توزيع الخلايا والمواد الغذائية بتجانس فى البيئة السائلة مما يسهل حصول الخلايا على احتياجاتها من المواد الغذائية والأكسجين , وتتم التنمية عادة فى دوارق مخروطية سعة ١٠٠- ٢٥٠ مل / لتر ويوضع بها حوالى من ٢٠-٤٠٪ من حجمها بيئة غذائية حتى تسهل عملية الرج وزيادة معدل التهوية، ويلاحظ أن هناك علاقة بين معدل الرج ومعدل ذوبان الأكسجين ويجدد معدل الرج حسب نوع الميكروب فنجد أن بكتريا الأزوتوباكتر تحتاج لأي معدل رج منخفض والذى يؤدى بدوره إلى خفض معدل ذوبان الأكسجين حتى لا يحدث تثبيط لإنزيم النيتروجينيز بينما الخميرة تحتاج لأي معدل تهوية عالى للحصول على أعلى كمية نمو وتستخدم أجهزة رج دائرية وفي هذه الحالة تهتز المزرعة السائلة فى حركة دائرية ملامسة للجدار الداخلى للدورق تاركة انخفاض فى وسط الدورق , وتستخدم أجهزة رج

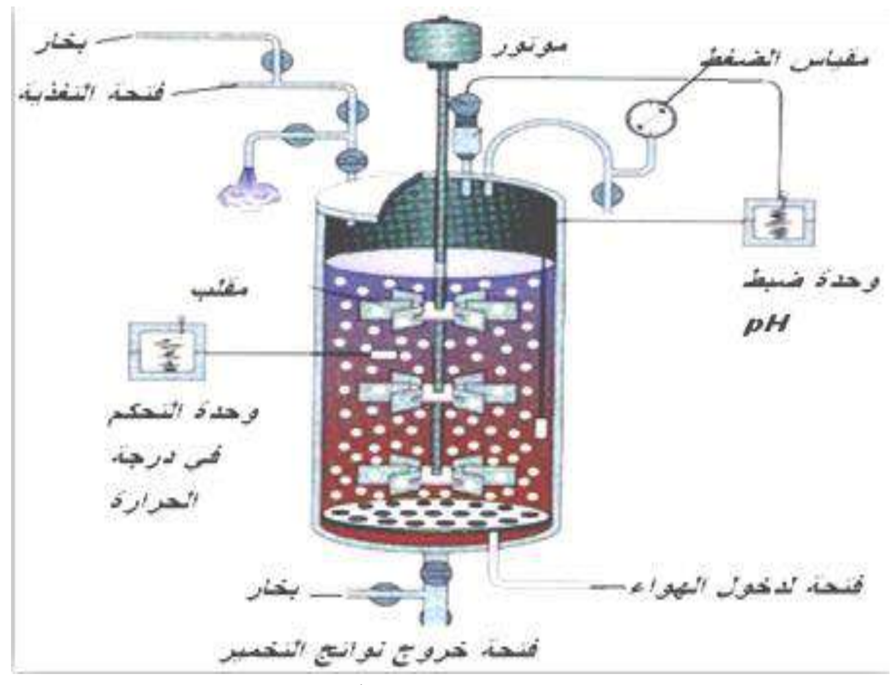
تتحرك فى خط أفقى مستقيم بالتبادل وتسمى Reciprocating shakers ، وهذا النوع من الرج يؤدى عند زيادة السرعة إلى ابتلال سدادات القطن بالبيئة مما يزيد من التلوث بميكروبات أخرى غير مرغوب فيها .

١ -المخمر ذو الدفعة الواحدة Fermenter as batch cultures

الهدف من استخدام المخمر هو الوصول إلى انسب الظروف لتنمية الميكروبات، ويختلف تصميم المخمر باختلاف الطريقة المستخدمة فى تنمية الميكروبات والمادة الخام المستخدمة والناتج النهائي من عملية التخمير.

ويتخلف حجم المخمر من دوارق صغيرة تتراوح سعتها من ٢٥٠ مل /لتر إلى أكثر من ٢٠ لتر وهي تستخدم للتجارب المعملية ، أما المخمرات التى تستخدم فى الأغراض التجارية يصل حجمها إلى عدة أطنان وتتركب المخمرات عادة من اسطوانة زجاجية بقاعدة دائرية ، ويوجد فى المخمر محور رئيسي يثبت علية أزرع للتقليب ومتصل بمحرك ذو سرعات مختلفة للتحكم في عملية التلقيب ، وقد يستعاض عن ذلك بمقلب مغناطيسي.

ويوجد للوعاء الزجاجي وعاء محكم علية عدة فتحات ذات أقطار مختلفة يوضع فيها إلكترود لضبط درجة الحموضة داخل المخمر بإضافة حمض أو قلوى ، ويمر من إحدى فتحات الغطاء عمود كهربائي لضبط درجة الحرارة ، ويوضع فى إحدى الفتحات أنبوبة لتوصيل البيئة الغذائية إلى المخمر من خلال أنبوب مطاطى وأخرى لإخراج المزرعة أو أخذ العينات وذلك باستخدام مضخة إضافة وسحب خاصة ، كما يتم التحكم فى عملية التهوية عن طريق جهاز لقياس كمية الهواء الداخلة للمخمر خلال أنبوبة طويلة تصل حتى قرب قاع المخمر بالقرب من محور المقلب حيث يخرج الهواء منها خلال فتحات صغيرة ، وقد يتصل بالمخمر أجهزة خاصة لقياس الأكسجين وثانى أكسيد الكربون الذائبين فى المزرعة وتسجيل التغيرات المختلفة أثناء النمو والشكل التالى يوضح أحد المخمرات.



شكل (٨-١) : رسم تخطيطي لأحد أنواع المخمرات

ثانياً: طريقة التغذية الواحدة ذات التغذية المتزايدة Feed batch cultures

تؤدى إضافة المواد الغذائية وخصوصا مصدر الكربون فى بداية التخمير فى مزارع الدفعة الواحدة إلى إنتاج كمية قليلة من الخلايا إذا ما قورنت بكمية الكربون المستهلك ، فإذا ما قدر عامل النمو والذى يعبر عن كمية النمو الناتجة بالنسبة لكل جزئ سكر مستهلك حيث نجد أنه فى هذه الحالة يتراوح من ١٠-٢٠٪ ويرجع السبب فى انخفاض عامل النمو إلى أن جزء من السكر يحدث له تخمر أو أكسدة غير كاملة مكونا أحماض عضوية وكحولات وهذا يكون على حساب تكوين الكتلة الخلوية Biomass ، كما أن بعض الميكروبات مثل الخميرة إذا زاد تركيز الجلوكوز عن ٥٪ فان هذا التركيز يؤدى إلى تثبيط إنزيمات الأكسدة والاختزال ولذلك يلجأ الميكروب إلى طريقة أخرى للحصول على الطاقة مثل اللجوء إلى تخمير السكر حتي ولو كانت الظروف هوائية وللتغلب على ذلك يجب إتباع ما يلى :

١-إضافة كمية السكر على فترات بكميات متساوية ، وإذا فرض أن فترة التحضين ١٥ ساعة فإن كمية السكر تضاف على ١٥ مرة بالتساوى حيث يؤدى ذلك إلى زيادة عامل النمو إلى ٣٠٪ .

٢-إذا أضيف السكر على فترات بحيث تزيد الكمية فى فترة ما عن سابقتها بنسبة زيادة ثابتة فمثلا إذا أضيف جرام واحد فى الساعة الأولى وأضيف اثنان فى الساعة الثانية وكذلك ثلاثة فى الساعة الثالثة وهكذا فذلك يؤدى غالى زيادة عامل النمو إلى ٤٠٪.

٣-إذا أضيف السكر بمعدل يتساوى مع معدل نمو الميكروب بمعنى إضافة كمية السكر طبقا لكمية النمو المتوقعة حيث أنه فى هذه الحالة يكون معدل الإضافة فى الساعة مساو لمعدل النمو فى الساعة ويؤدى ذلك إلى زيادة عامل النمو إلى ٥٠٪ وتسمى الحالة الأخيرة بطريقة الدفعة الواحدة ذات التغذية المتزايدة .

ونظرا لصعوبة إضافة السكر (العامل المحدد للنمو) بمعدل يتساوى مع معدل النمو للميكروب فى الساعة ، فعادة تضاف البيئة الغذائية المحتوية على السكر إلى المزرعة بمعدل تخفيف يتساوى مع معدل النمو التخصصي

Specifics growth rate ، وحيث أن معدل التخفيف هو عبارة عن معدل إضافة البيئة الغذائية بالمللي لتر / ساعة / وحدة واحدة من حجم المزرعة فان حجم المزرعة يزداد باستمرار الإضافة ويمكن حساب معدل التخفيف من المعادلة التالية

$$D = F (V+Ft)^{-1}$$

حيث أن

معدل التخفيف = D معدل الإضافة = F

حجم المزرعة بالميلليلتر=V زمن الإضافة = t

ثالثاً: المزارع شبه المستمرة Semi-continuous culture

إن الغرض الأساسي من المزارع المستمرة هو توفير الظروف المثلي للميكروب لكي يستمر فى النمو دون توقف كما يحدث فى مزارع الدفعة الواحدة، حيث يصل النمو إلى حد معين وهو نهاية الطور اللوغاريتمى ثم يبدأ معدل النمو فى الانخفاض نتيجة لتثبيط نمو الميكروب بإضافة بيئة غذائية جديدة باستمرار إلى المخمر وسحب كمية مماثلة من المزرعة بنفس المعدل ولذا تؤدى عملية السحب إلى تقليل نواتج التمثيل الغذائي إلى الحد الذي لا يؤثر على معدل نمو الميكروب ويكون معدل نمو الميكروب داخل المخمر فى حالة ثبات حيث تكون معاير النمو من معدل النمو ومعدل استهلاك

كلا من السكر والأكسجين ومعدل إنتاج ثاني أكسيد الكربون ثابتة خلال فترة الثبات هذه , ويتم إجراء جميع الدراسات البيولوجية والفسيولوجية للميكروب النامي في المخمر خلال هذه الفترة , وتستمر حالة الثبات هذه مادام معدل إضافة البيئة ثابتا ومساويا لمعدل سحب المزرعة ، وبمعني أخر فان الميكروب ينمو بمعدل يتساوى معدل إضافة البيئة ، ويستمر هكذا فى حالة ثبات حتي يتم تغير معدل التغذية , وتتوقف معاير النمو على معدل تدفق البيئة ، ويعرف معدل التدفق بأنه كمية البيئة الغذائية المضافة بالملليلتر في الساعة إلى المخمر Flow rate (F) .

Flow rate (F) = Fresh medium (ml)/Hour

وحيث أن معدل تدفق البيئة للمخمر لا يمكن أن تؤخذ كقيمة يمكن مقارنتها من مخمر إلى أخر نظرا لتغير حجم المخمر الذي يؤدى إلى تغير حالة الثبات بالرغم من ثبات معدل التدفق، ولذلك ينسب معدل التدفق إلى كمية المزرعة فى المخمر Working volume لكي نحصل على معدل التخفيف Dilution rate والذي يعنى الكمية المضافة من البيئة إلى المخمر فى الساعة لكل وحدة من حجم المزرعة فى المخمر ويحسب كالتالى :

Dilution rate= Flow rate÷ Working volume

فإذا فرض أن معدل التدفق =٥٠مل للتر / ساعة وكان حجم المزرعة فى المخمر هو ١٠٠٠ مل للتر فيمكن حساب معدل التخفيف كما يلي :

$D = 50 \div 1000 = 0,05 h^{-1}$

أى يضاف ٠,٠٥ مللى لتر بيئة جديدة فى الساعة لكل ١ مل للتر من المزرعة .

ولذلك فإنه فى التخمير المستمر يتم تغذية المخمر بمعدل ثابت من بيئة التخمير التى يتم تخميرها بواسطة الميكروبات تحت الظروف البيئية المناسبة المتحكم فيها أتوماتيكياً ويسحب الناتج باستمرار مع التغذية المستمرة، لذلك فإن الإنتاج في هذا النوع من التخمير يتم بطريقة مستمرة وتوفر هذه الطريقة ظروفا أفضل فى الإنتاج كما أنها طريقة اقتصادية.

وعلي سبيل المثال فى حالة إنتاج البنسلين، تتم التخمرات الهوائية بطريقة المزرعة المغمورة حيث ينمى الميكروب مغمورا فى البيئة مع توفير وسائل التقليب

والتهوية بالهواء المعقم المضغوط ويتم التحكم فى عوامل الإنتاج أليا ولكى يكون المنتج اقتصاديا يصل حجم المخمر إلي ٥٠٠م^{3} كما في إنتاج المضادات الحيوية، وتمتاز طريقة المزرعة المغمورة عن المزرعة السطحية والتى ينمى فيها الميكروب على سطح البيئة بأن طريقة المزرعة المغمورة توفر المساحات الكبيرة التى كانت تتطلبها طريقة المزرعة السطحية كما أنها اقل تكلفة وتعطى إنتاج اكبر فى مدة أقصر.

أنواع التخمرات الميكروبية Types of microbial fermentations

التخمر هو عملية ميكروبيولوجية الهدف منها إعادة تخليق الطاقة وفيها تستخدم نواتج الهدم العضوية كمعطي أو كمستقبل للأيدروجين، ومعظم خطوات التخمر عبارة عن نزع الأيدروجين Dehydrogenation بواسطة إنزيمات Dehydrogenases التى تملكها كل الميكروبات القادرة على إحداث التخمر من أحد مكونات مسار التفاعل وتقوم العوامل المساعدة مثل NAD^+ أو NADP بنقل هذا الأيدروجين المنزوع إلى مكون أخر من مكونات مسار التفاعل حيث ينتقل الأيدروجين إلي عامل مساعد مثل NAD^+ أو $NADP^+$ والميكروبات التى تقوم بها لا تملك نظام السلسلة التنفسية لانتقال الإلكترونات ولذلك تحدث عملية لإعادة تخليق ATP عادة بطريقة Phosphorylation ,وأثناء تخمر الكربوهيدرات ينتج الكثير من النواتج الوسطية سواء بصورة منفردة أو متجمعة مثل :

- الكحولات ومنها الإيثانول ، البروبانول ، البيوتانول والجليسرول.
- الأحماض العضوية مثل الفورميك ،الأسيتيك ،البروبيونيك ، البيوتيريك ،اللاكتيك ،السكسنيك ، الستريك والجلوكونيك.
- الأسيتون والبيوتان ديول.
- الغازات مثل ثانى أكسيد الكربون والهيدروجين.

وبناء على الناتج النهائي من الناحية الكمية تقسم التخمرات إلي تخمر كحولى، تخمر لاكتيكي ، تخمر فورميكى ، تخمر بروبيونيكى وتخمر بيوتيريكى وهكذا, ومعظم البكتريا التى تقوم بعملية التخمر بكتريا لاهوائية حتمية ولكن بعضها لا هوائية اختيارية وتستطيع النمو في غياب أو وجود الأكسجين وفي هذه البكتريا الاختيارية فإن الأكسجين يثبط التخمر ويشجع التنفس.

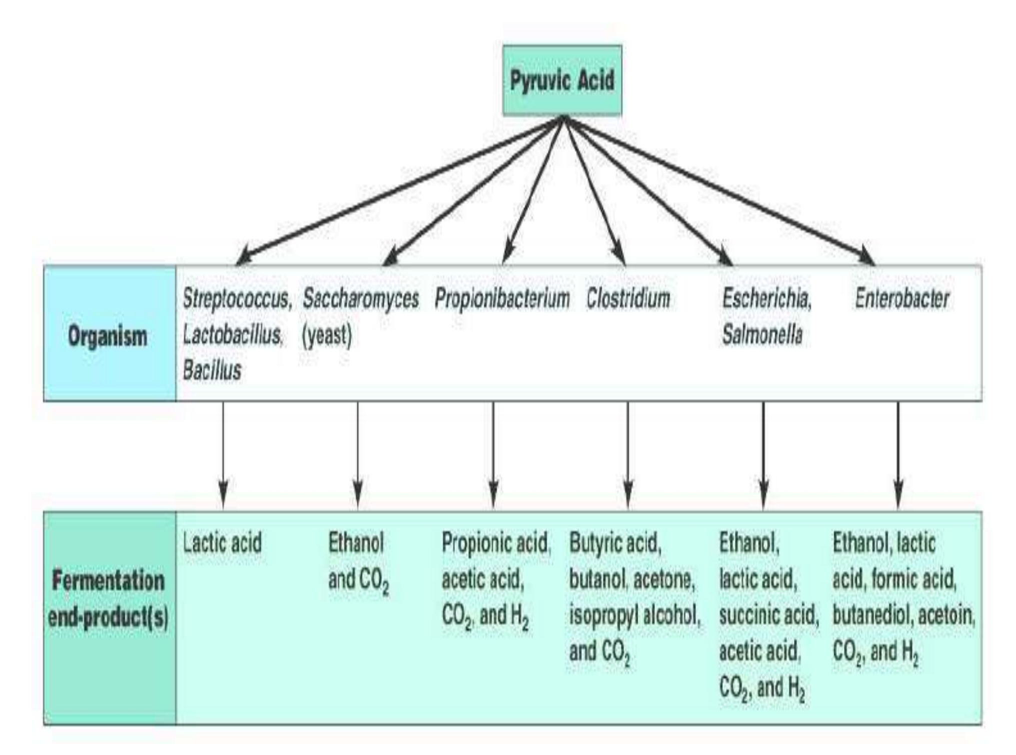
وسواء أكان التفاعل تخمر بكل أنواعه أو تنفس فإنها تحول سكر الجلوكوز أولاً إلى حمض البيروفيك ثم إذا كان التفاعل تخمر فإن حمض البيروفيك يتحول إلى إيثانول فى خطوتين هما :

- يتحول حمض البيروفيك إلى الأسيتالدهيد بنزع مجموعة –COO– بواسطة إنزيم Pyruvate decarboxylase وبمشاركة المرافق الإنزيمى ثيامين بيروفوسفات.

$$CH_3-CO-COOH \xrightarrow{\text{Pyruate decarboxylase}} CH_3-CHO + CO_2$$

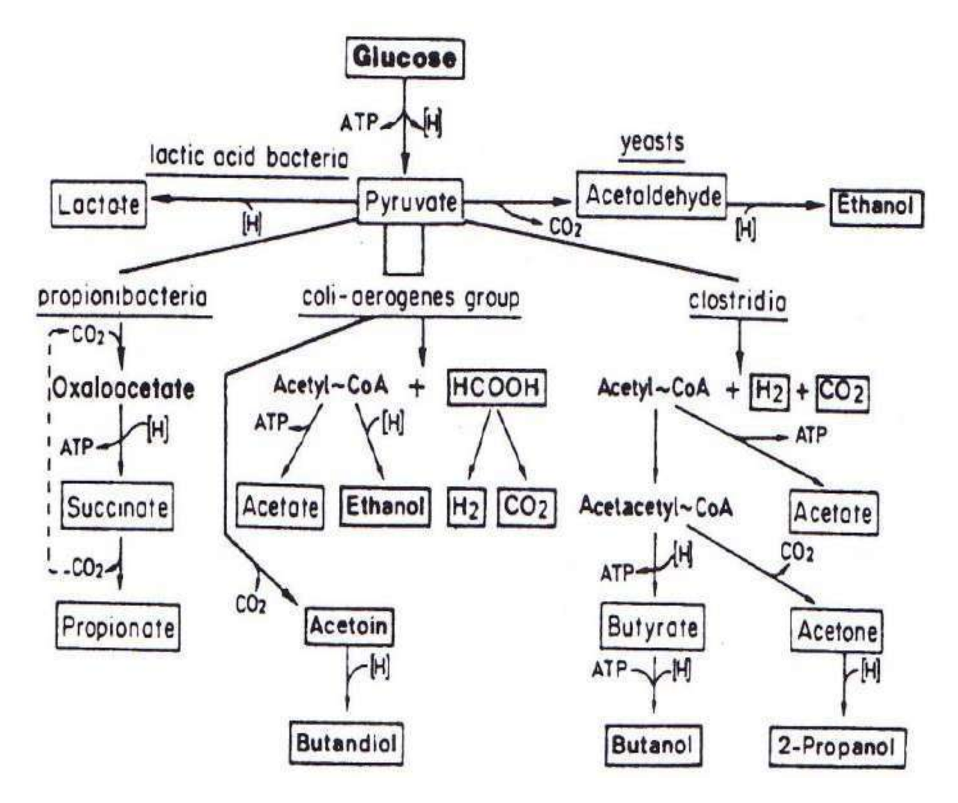
- اختزال الأسيتالدهيد إلى إيثانول فى وجود $NADH_2$ الذى يعمل كمانح للأيدروجين.

$$CH_3-CHO \xrightarrow{\text{Alcohol dehydrogenase}} CH_3-CH_2OH$$



شكل (٨–٢) :التحولات والنواتج المختلفة لحمض البيروفيك

وتعتبر النواتج النهائية لعملية التخمر صفة تقسيمية لمجموعة البكتريا التى تنتجها ويوضح الشكل التالي ملخص للتفاعلات وللمركبات الوسطية والنهائية الناتجة من تخمر الجلوكوز وأهم البكتريا التى تكونها.



شكل (٨-٣) :النواتج المختلفة لتخمر سكر الجلوكوز بواسطة أنواع البكتريا المختلفة

إنتاج الكحولات بواسطة الكائنات الحية الدقيقة

إن أحد الحلول الجزئية لمواجهة الحاجة المتزايدة من الطاقة وارتفاع أسعار البترول والحفاظ على البيئة من التلوث هو البحث عن مصادر جديدة للطاقة ، ولذلك فقد ازداد فى السنوات الأخيرة الأبحاث الخاصة باستخدام الكائنات الحية الدقيقة فى إنتاج الكحولات مثل استخدام الخميرة وبعض أنواع البكتريا مثل بكتريا الزيموموناس ، حيث أن الهدف الأساسى من إنتاج كحول الإيثانول هو مزجه مع البنزين ليستعمل كوقود لوسائل النقل ، وعلى سبيل المثال نجد أن الإنتاج الكلى من الإيثانول فى استراليا يبلغ حوالى ١٣٥ مليون لتر إلا أن حوالى ٥٠ مليون لتر منها فقط هى التى تستعمل للمزج مع البنزين لتستعمل كوقود لوسائل النقل ، علما بان هذه النسبة تقل عن ذلك كثيرا فى معظم بلدان العالم بل هناك بلاد كثيرة لم تبدأ بعد فى تنفيذ هذا النظام .

ولقد ظهرت فى الأونة الأخيرة بعض التعليقات السلبية الخاصة باستعمال الإيثانول كوقود، حيث ركزت هذه التعليقات على الادعاء بالضرر الذي يمكن أن يحدث لمحركات وسائل النقل والذي يحدث عند استعمال المزيج المحتوى على أكثر من ١٠٪ إيثانول ولكن الدراسات التى أجريت فى استراليا أكدت على أن استعمال الإيثانول كوقود يتضمن منافع بيئة وتطوير للصناعات ، وأن مصادر المواد الخام اللازمة لإنتاجه متوافرة ومتجددة ، وبالنسبة لمحركات السيارات فلا يحدث لها أى ضرر كما أنها ليست بحاجة إلى أى تعديل عندما يستخدم البنزين مع الإيثانول فى حدود ٢٤٪ ، وعلى ذلك فان عدد كبير من الولايات فى أمريكا بخلط الإيثانول بنسبة ١٠٪ مع البنزين للاستعمال كوقود للسيارات ، أما فى البرازيل فيضاف الإيثانول بنسبة ٢٤٪ مع البنزين، ومن المتوقع أن تزداد فى المستقبل نسبة الإيثانول المضافة إلى البنزين حتي يتم إحلال كلى للإيثانول بنسبة ١٠٠٪ .

وعلى الرغم من أن معظم طرق إنتاج الإيثانول على المستوى التجارى المتبعة الأن ما زالت قديمة ، إلا أن الدراسات التى أجريت على محاصيل الحبوب مثل الذرة أوضحت أن استخدمها فى إنتاج الإيثانول يعتبر عملية مربحة ، حيث أظهرت هذه الدراسات أن اقتصاديات إنتاج الإيثانول تتوقف على تكلفة المادة الخام ، قيمة المنتجات الوسطية المصاحبة للمنتج الرئيسى ، سعر الإيثانول المنتج، تكاليف الطاقة ، الأيدى العاملة ، أسعار المواد المنافسة مثل البترول ومشتقاته.

ويوجد ثلاث اعتبارات أساسية تؤثر على نجاح عملية إنتاج الإيثانول وهى:

١- كفاءة تحويل السكر إلى إيثانول.

٢- كمية الطاقة المستهلكة.

٣- مدى توفر المخلفات(المنتجات الثانوية) التى تستخدم فى الإنتاج.

ومن المتوقع أن يزداد إنتاج الإيثانول عن طريق التخمير خصوصاً بعد تطبيق التقنيات الحديثة التى تقلل من تكاليف الإنتاج بالإضافة غالى زيادة أسعار البترول المستمرة ، ومن المعتقد أن إنتاج الإيثانول من الحبوب أصبح عملية معروفة بشكل جيد وأنه لا يوجد تقدم يمكن توقعه فى هذا الصدد إلا أن ذلك الاعتقاد بعيد كل البعد

عن الحقيقة ، وذلك لان الأبحاث فى مجال إنتاج الإيثانول والتحليل الإنزيمى للمواد الخام قبل تخميرها والتخمير والتقطير والاستخلاص ومعالجة المخلفات وكيفية استثمار النواتج الوسطية مازالت تأتى كل يوم بجديد، ويجب أن ننوه إلى أن المسئولية تقع على عاتق وزارتي الصناعة والبحث العلمي وكذلك الجامعات والمراكز البحثية والتى يجب أن تهتم بتصميم الأدوات الجديدة التى يتم إدخالها على مصانع إنتاج الإيثانول، كذلك يجب أن يتم المزيد من الدراسات على إدخال تقنيات جديدة لإنتاج الإيثانول مثل تحويل السليولوز إلى إيثانول .

إنتاج كحول الإيثانول(الكحول الإيثيلى)

يعتبر كحول الإيثانول من الكحولات التي تستخدم بكثرة في كثير من الصناعات الكيميائية وفي المعامل وفي بعض الأغراض الطبية ، كذلك يستخدم كحول الإيثانول كوقود في بعض الدول مثل البرازيل وقد عرف كحول الإيثانول منذ زمن بعيد عندما لوحظ تخمر بعض عصائر الفاكهة مثل عصير العنب، ومما هو جدير بالذكر أن نوع السلالة الميكروبية التي تستخدم في عملية التخمير لإنتاج الكحول تختلف علي حسب نوع المخلف المستخدم في عملية الإنتاج، ومن المعروف أن عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة يقوم بتخمير السكريات إلى إيثانول مثل الخميرة من النوع *Saccharomyces cerevisiae* والبكتريا اللاهوائية اختيارا التى تتبع جنس *Zymomonas* ومنها الأنواع :

Zymomonas mobilis and *Zymomonas anaerobia* .

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Saccharomycetes

Order:Saccharomycetales

Family:Saccharomycetaceae

Genus:*Saccharomyces* Species:*Saccharomyces cerevisiae*

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Alphaproteobacteria

Order:Sphingomonadales

Family:Sphingomonadaceae

Genus:*Zymomonas*

Species

Zymomonas anaerobia

Zymomonas mobilis

Subspecies

Z. mobilis*, subsp. *francensis

Z. mobilis*, subsp. *mobilis

Z. mobilis*, subsp. *pomaceae

أولاً: إنتاج كحول إيثانول بواسطة الخميرة

الشروط الواجب توافرها فى الخمائر المستخدمة فى إنتاج الإيثانول

١-يجب أن يكون للخمائر قدرة على تحمل الضغط الأسموزي المرتفع.

٢-يجب أن يكون للخمائر القدرة على تحمل التركيز العالى من الكحول الإيثيلى.

٣-يجب أن تتميز بالنمو السريع وذات كفاءة فى معدل التخمير.

٤-يجب أن تتحمل التركيزات العالية من الحموضة حيث أن هذه الخاصية تساعد على منع التلوث.

٥-يجب أن تتحمل درجات الحرارة العالية لتقليل تكاليف الإنتاج.

٦-يجب أن تتميز بخواص تلبد جيدة Flocculation ، حيث أن هذه الخاصية تسهل عملية فصل الخلايا قبل الاستخلاص.

٧-يجب أن يكون لها القدرة على تخمير عدد كبير من المواد الخام السكرية.

وتقوم الخميرة من النوع ***Saccharomyces cerevisiae*** بإنتاج الإيثانول من الجلوكوز لاهوائياً عن طريق دورة التحلل الجليكولى وذلك طبقاً للمعادلة التالية:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CH_3-CO-COOH \longrightarrow 2CH_3-CH_2OH + 2CO_2$$

جلوكوز بيروفيك إيثانول

والمعادلة السابقة هي أشهر معادلة معروفة في التخمرات بشكل عام وتعرف بمعادلة التخمر العامة ومن المهم جدا لكل دارسي التخمر تأمل المعادلة السابقة لاستنتاج الأتي:

وبحساب الوزن الجزيئي لسكر الجلوكوز نجد أنه ١٨٠ وبحساب الوزن الجزئي للكحول الناتج نجد أنه ٤٦ مضروبة في ٢ أي ٩٢، وهذا يعني أن كل ١٠٠ جرام سكر جلوكوز تعطي من الناحية النظرية ٥١,١ جرام كحول ، غير أنه لا يوجد ميكروب يعطي ١٠٠٪ من القيمة النظرية ولكن أفضل الميكروبات تعطي حوالي ٩٠٪ من القيمة النظرية بسبب جزء من السكر فى نمو الخميرة وكذلك بسبب تحول جزء أخر من السكر إلى نواتج وسطية أخرى وتختلف الميكروبات المنتجة للإيثانول فى كفاءة التخمير، ولذلك فإنه تبذل الكثير من الجهود فى مجال البيوتكنولوجي والهندسة الوراثية من أجل الحصول على سلالات تعطى كفاءة تخمير عالية.

وبناء على ما سبق فإنه يمكن حساب كفاءة التخمير من المعادلة الأتية:

كفاءة التخمير(٪) = وزن الإيثانول الناتج ÷ القيمة النظرية للإيثانول × ١٠٠

ولا يوجد عملية إنتاج للإيثانول بكفاءة تخمير أكثر من ٩٣٪ من القيم النظرية على المستوى التجارى ، وتتوقف كفاءة التخمير على عدة عوامل منها:

١-كفاءة الخميرة المنتجة.

٢-كفاءة عملية التسكير.

٣- مدى ملائمة ظروف الإنتاج سواء الظروف البيئية أو الغذائية.

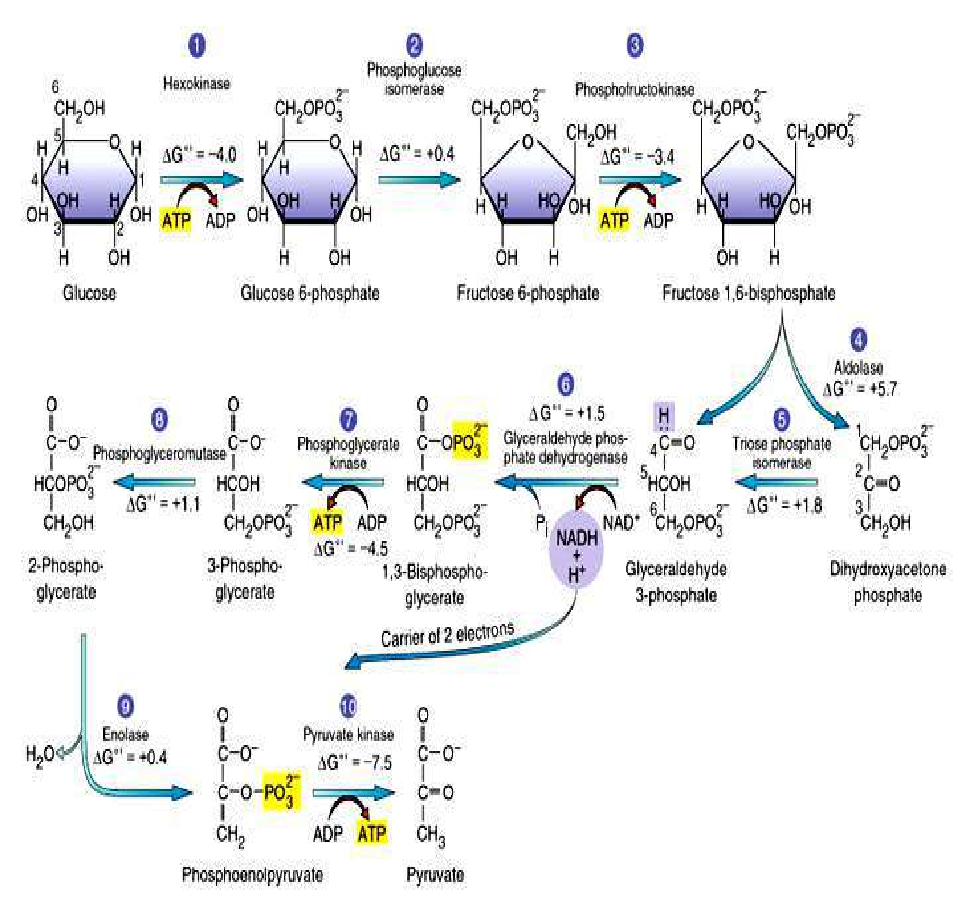
٤- كفاء عملية الاستخلاص.

إنتاج الكحول بواسطة الخميرة

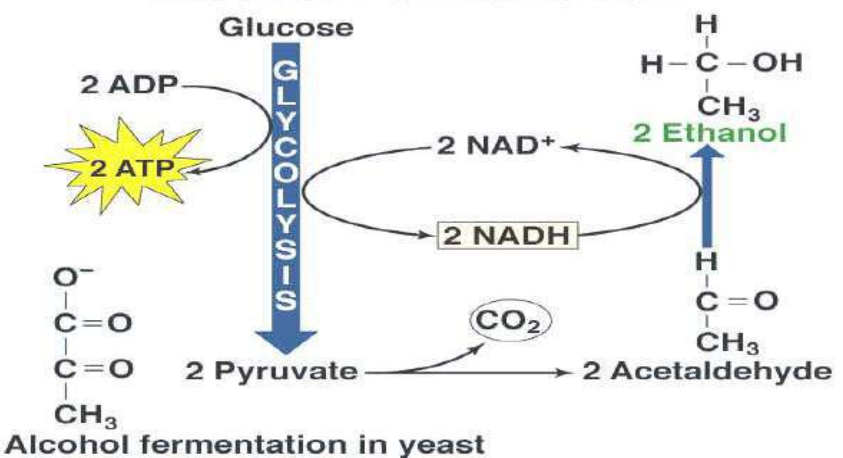
يعتبر التخمر الكحولي من الصناعات التخميرية التي عرفت منذ العصور القديمة وهي من أهم الصناعات التخميرية وأكثرها انتشارا في العالم لتعدد استخدامات كحول الإيثانول في كثير من المجالات الطبية والدوائية والصناعية والزراعية بالإضافة إلي استخدامه في مجالات الطاقة المختلفة وكوقود للسيارات في بعض دول العالم مثل البرازيل وأمريكا كبديل للبنزين، ويستخدم في إنتاج الكحول علي نطاق تجاري مواد خام رخيصة الثمن مثل مخلفات المصانع مثل مخلفات مصانع السكر (مولاس قصب السكر ومولاس بنجر السكر)، ومخلفات مصانع الورق (السائل الكبريتيدي) ومخلفات مصانع الألبان (الشرش)، ومخلفات مصانع النشا والجلوكوز والمواد النشوية (نشا الذرة)، ومخلفات مصانع العصائر ومصانع البطاطس ومخلفات مصانع الأخشاب (السليولوز المحلل)، والمخلفات الزراعية (المواد السليولوزية المحللة مثل قش القمح والأرز وعيدان وقوالح الذرة)، وعند إنتاج الكحول الإيثيلي من المولاس فإن الميكروب المستخدم هو سلالة من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* حيث تسلك الخميرة مسار Embeden-Meyerhof-Parnas pathway، ويتم ذلك التخمير عادة باستخدام مزارع الدفعة الواحدة ويستخدم المولاس الذى يحتوي على السكروز بتركيز يتراوح من ١٠-٢٠٪، ويجب تدعيم بيئة المولاس بالمواد الغذائية الأخرى كمصادر للنيتروجين مثل كبريتات الأمونيوم أو اليوريا أو كمصدر للفوسفات مثل فوسفات البوتاسيوم أو الأمونيوم والأملاح المعدنية والفيتامينات ، ولكن عند إنتاج الكحول الإيثيلي من الشرش فإن الميكروب المستخدم هو سلالة من خميرة *Candida tropicalis* والمعادلة التالية توضح تخمر سكر الجلوكوز بواسطة الخميرة.

جلوكوز ——إنزيمات الخميرة——◄ ٢حمض بيروفيك

٢حمض بيروفيك ————◄كحول إيثانول+ ثاني أكسيد الكربون



شكل (٨-٤): خطوات تخمر الجلوكوز بواسطة الخميرة عن طريق مسار Embeden-Meyerhof-Parnas pathway



شكل (٨-٥): إنتاج كحول الإيثانول بواسطة الخميرة

طريقة الإنتاج Production method

يتم ذلك عادة باستخدام مزارع الدفعة الواحدة مع استخدام ماده خام مثل المولاس، ويتم وضع المولاس بعد تدعيمه بالمواد الغذائية الأخري من مصدر مناسب من كل من النيتروجين والفوسفات والأملاح المعدنية أو الفيتامينات في المخمر ويتم التلقيح بلقاح الخميرة المحضر حديثا، ثم يضبط المخمر لتوفير جميع الظروف الملائمة لإكثار الخلايا هوائياً وإعطاء كتله حيوية كافية عندئذ يتم وقف التهوية وينخفض تركيز الأكسجين الذائب تدريجيا وتسود الظروف اللاهوائية وتبدأ الخلايا في تخمير السكر وإنتاج كحول الإيثانول وتستمر فترة التحصين من ٢-٣أيام ، وتتراوح إنتاجية الكحول من ١-٢جرام إيثانول/الساعة/ جرام خميرة جافة أو ١-١٠جرام كحول/ لتر بيئة/ ساعة، ويزداد تركيز الإيثانول تدريجياً ويمر بعدة مراحل أولها مرحلة زيادة معدل إنتاج الكحول حتى تصل إلى معدل ثابت وبعد ذلك تبدأ المرحلة الثانية ويكون فيها معدل الإنتاج ثابت حيث يزداد معدل إنتاج الكحول زيادة لوغاريتمية وتستمر هذه الزيادة حتى يصل تركيز الكحول إلى الدرجة التى تؤثر على النشاط الحيوى للخلية (٣-٤٪) ويبدأ بعدها انخفاض تدريجي فى معدل الإنتاج وتسمى مرحلة انخفاض الإنتاج، ويتوقف ذلك علي سلالة الخميرة وكثافة الخلايا في المخمر والمادة الخام المستخدمة وطريقة التنمية.

وعند استخدام نظام التخمير شبه المستمر Semi- continuous يجب أن يكون تركيز السكر فى البيئة متناسبا مع إنتاج الكحول وأن يكون معدل التخفيف المستخدم فى التغذية مناسبا لإعطاء أعلى معدل من إنتاج الكحول، ويراعى فى مزارع الدفعة الواحدة أو المستمرة توفير مصدر الفوسفور المناسب وبالتركيز الذى يتناسب مع معدل استهلاك السكر، ويراعى عدم تلوث المخمر وخصوصاً بالخمائر المثبطة التى تسمى بالخمائر القاتلة للخميرة المنتجة للكحول ، حيث تنتج الخمائر المثبطة توكسينات قاتلة ومن أهم الخمائر المثبطة هى *Kluyveromyces phafii, Pichia membranifaciens*.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Saccharomycetes

Order:Saccharomycetales

Family:Saccharomycetaceae

Genus:*Kluyveromyces* **Species: *Kluyveromyces phafii***

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Saccharomycetes

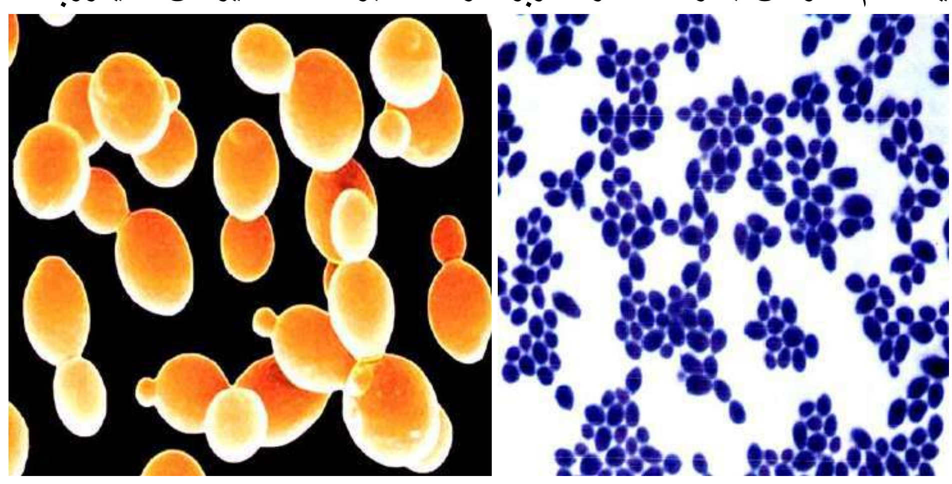
Order:Saccharomycetales

Family:Saccharomycetaceae

Genus:*Pichia* **Species: *Pichia membranifaciens***

إنتاج كحول الإيثانول من المولاس

يستخدم المولاس بكثرة كمصدر للكربون والطاقة بواسطة الكثير من الميكروبات



شكل (٨-٦): *Saccharomyces cerevisiae*

حيث يحتوى علي ٤٨-٥٠٪ سكروز ، ويجب التنويه إلي أن المولاس به نسبة قليلة من المواد النيتروجينية والفوسفاتية لا تفى بحاجة الميكروبات الغذائية، وعند استخدام المولاس في إنتاج الكحول تخفف به نسبة السكروز لتصل إلي ١٠ ٪ ويتم خفض الـ pH إلى ٤,٥ وهي درجة الـ pH المناسبة لنمو الخميرة , كذلك يضاف للمولاس سلفات أمونيوم وفوسفات أمونيوم بنسبة ٠,٢ – ٠,٤٪ وقد يضاف بعض المواد الأخرى مثل مستخلص الخميرة كمصدر للمنجنيز والفيتامينات.

خطوات الإنتــاج

السلالة المستخدمة هي *Saccharomyces cerevisiae* حيث تمتاز هذه الخميرة بالنمو الغزير وقدرتها العالية علي إنتاج كميات كبيرة من الكحول.

أولاً : تحضير البادئ

لتحضير البادئ يتم تلقيح أنبوبة اختبار محتوية علي ١٠ مل من بيئة مستخلص المولت بواسطة سلالة منتقاة من الخميرة, ثم تحضن علي درجة حرارة ٢٥- ٢٨°م لمدة ٤٨ ساعة ثم تستخدم هذه المزرعة في تلقيح دورق مخروطى به ٢٥٠ مللى لتر من بيئة مستخلص المولت ثم يستخدم الناتج في تلقيح ٤ لتر من بيئة المولاس المعقم ثم التحضين علي درجة الحرارة السابقة ولمدة ٤٨ ساعة ويلاحظ أن توفير التهوية عامل مهم جدا في مرحلة إعداد البادئ.

ثانياً: التخمير

يضاف البادئ بنسبة ٥-١٠٪ من حجم المخمر إلي محلول المولاس المخفف والذى يصل به تركيز السكر إلي ١٢٪ ، بعد ذلك تضاف أملاح النيتروجين والفوسفور بالكميات المطلوبة لأن المولاس فقير في هذه العناصر ويتم التخمير عادة علي درجة pH ٤-٤,٥ ويستخدم عادة حمض الكبريتيك في ضبط درجة الحموضة ، إن المراحل الأولى من التخمير تحتاج إلي تهوية كافية لتكوين كتلة حيوية Biomass لذلك يجب دفع هواء معقم بمعدل مناسب فى المراحل الأولى ، بينما لا يحتاج إنتاج الإيثانول إلي تهوية حيث يتم ذلك في ظروف لاهوائية.

درجة حرارة التخمير

تضبط درجة الحرارة علي ٣٠°م ولكن أثناء التخمير يحدث ارتفاع في درجة الحرارة ، لذلك تستخدم ملفات للتبريد أو يرش ماء بارد علي تنك التخمير حتي لا ترتفع درجة الحرارة عن ٣٠°م لأن الحرارة المرتفعة تؤدى إلي تطاير جزء من الكحول الناتج ، كما أن ارتفاع درجة الحرارة يحد من نشاط الخميرة ويشجع من نمو البكتريا الملوثة لبيئة التخمير تحت هذه الظروف ، ويستمر التخمير لمدة تتراوح من ٥٠-٧٠ ساعة أى بمتوسط ٦٠ ساعة.

ويعرف انتهاء التخمير بهبوط الفوران الناتج من انطلاق ثانى أكسيد الكربون أو بقياس تركيز السكر والكحول حيث من المعروف أنه في نهاية التخمير يتحول حوالى ٩٠٪ من السكر إلي كحول وغاز ثانى أكسيد الكربون.

ثالثاً : عملية التقطير

يتم الحصول علي الكحول الناتج بواسطة تقطير السائل المتخمر ويمثل كحول الإيثيل حوالى ٤٨٪ من النواتج النهائية ويمثل ثانى أكسيد الكربون حوالى ٤٧٪ حيث يجمع وينقى ويتم ضغطه في اسطوانات حيث يستعمل في صناعة المياه الغازية وطفايات الحريق أو يحول إلي ثلج جاف ليستخدم في حفظ الأغذية بالتجميد.

النواتج الثانوية للتخمر الكحولى

ينتج أثناء عملية التخمر الكحولى العديد من المركبات بجانب الكحول وثانى أكسيد الكربون ، حيث ينتج كميات قليلة من الجليسرول (٣٪) وحمض السكسنيك واللاكتيك (١٪) وبعض الكحولات الأخرى مثل الأمايل والأيزوأمايل ، أيضاً ينتج زيت الكحول والذى يمثل ١٪ حيث يستخدم هذا الزيت من صناعة البويات.

إنتاج كحول الإيثانول من مخلفات صناعة الورق

تستخدم مخلفات صناعة الورق في إنتاج الكحول الإيثيلى حيث تحتوى هذه المخلفات علي ٣٠٪ كربوهيدرات عبارة عن جلوكوز ومانوز وجلاكتوز ، وتصل نسبة السكريات القابلة للتخمر إلي ٧٠٪ ، وقبل تلقيح سائل السلفيت بسلالة

الخميرة يتم التخلص من ثانى أكسيد الكبريت وحمض اللاكتيك والفورميك وذلك بمعاملة السائل بالبخار ثم معاملة السائل بالجير أو كربونات الكالسيوم .

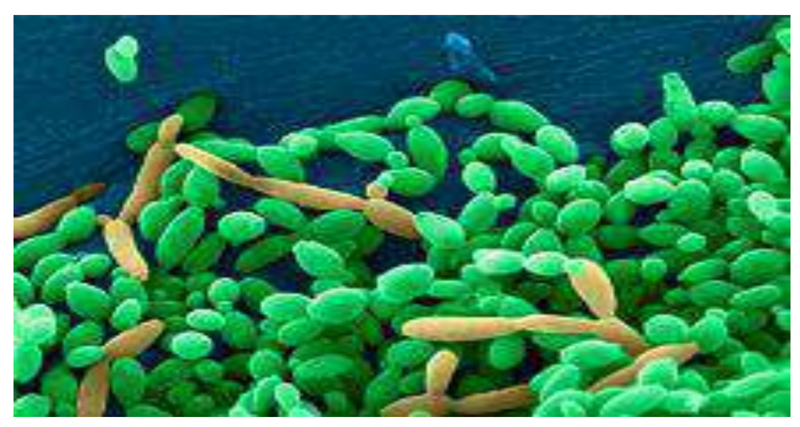
عملية الإنتــاج

يتم تجميع السائل المتخلف عن صناعة الورق يم ينقى ويصفى ويخزن في تنك يضخ من أسفله تيار من البخار حيث تصل درجة الحرارة إلي ٩٠°م وفي هذه الأثناء يتم التخلص من ثانى أكسيد الكبريت ، بعد ذلك يتم ضخ السائل الساخن عبر غرابيل للتخلص من ألياف لب الخشب ، بعد ذلك يتم تخزين هذا السائل في تنكات وذلك بعد مرور السائل علي مبردات لخفض درجة حرارة السائل إلي٣٠ °م ، بعد إجراء عملية التبريد يتم ضبط pH السائل إلي ٤,٥ ثم تضاف اليوريا كمصدر للنيتروجين، بعد إجراء عملية المعالجة المطلوبة لسائل السلفيت يتم نقله إلي تنكات التخمير ثم يضاف بادئ الخميرة مع توفير التهوية في المراحل الأولى فقط ويتم التخمير علي درجة حرارة ٣٠°م لمدة ٢٤ ساعة ، وتعتبر الولايات المتحدة الأمريكية وألمانيا وكندا من الدول الرائدة في إنتاج الكحول الإيثيلي من مخلفات صناعة الورق.

إنتاج كحول الإيثانول من الشرش

يعتبر الشرش من المواد التي يمكن استخدامها في إنتاج الكحول حيث يتم الإنتاج في المراحل التالية.

في البداية يتم فرز الشرش لفصل الدهن منه ثم يتم تسخين الشرش إلي درجة الغليان ثم يضبط الـ pH عند ٥، بعد ذلك تجرى عملية ترشيح لفصل البروتين ثم يبرد الشرش الرائق إلي درجة حرارة ٣٤°م ، بعد ذلك يضاف البادئ الذى هو عبارة عن خميرة من النوع *Candida tropicalis* بنسبة ٥-١٠% من حجم المخمر، مدة التخمير من يومين إلي ثلاثة أيام بعد ذلك يتم فصل خلايا الخميرة ويتم تقطير السائل المتخمر للحصول على الكحول.



شكل (٨-٧): *Candida tropicalis*

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Saccharomycetes

Order:Saccharomycetales

Genus:*Candida*

Species:*Candida tropicalis*

إنتاج كحول الإيثانول بواسطة البكتريا

تستخدم بعض أنواع البكتريا اللاهوائية اختيارا التى تستطيع أن تتحمل التركيزات المنخفضة من الأكسجين فى إنتاج كحول الإيثانول مثل:

Zymomonas mobili s & Zymomonas anaerobia

حيث تستطيع هذه البكتريا أن تخمر سكر الجلوكوز والفراكتوز وتكون كميات متساوية من كحول الإيثانول وثانى أكسيد الكربون عن طريق مسار **Entner –Doudoroff pathway**، فى هذا المسار ينتج مركبين هما حمض البيروفيك و٣- فوسفو جليسر ألدهيد ويتكون $NADH_2$ الذى يختزل الأسيتالدهيد إلى كحول الإيثانول، وتنتج هذه البكتريا٥, ٢ - ٨ ,٣ جرام من الإيثانول / ساعة/

جرام خلايا وهذه الكمية تساوى ضعف ما تنتجه الخميرة من كحول عند تخمير السكريات.



شكل (٨-٨): *Zymomonas mobilis*

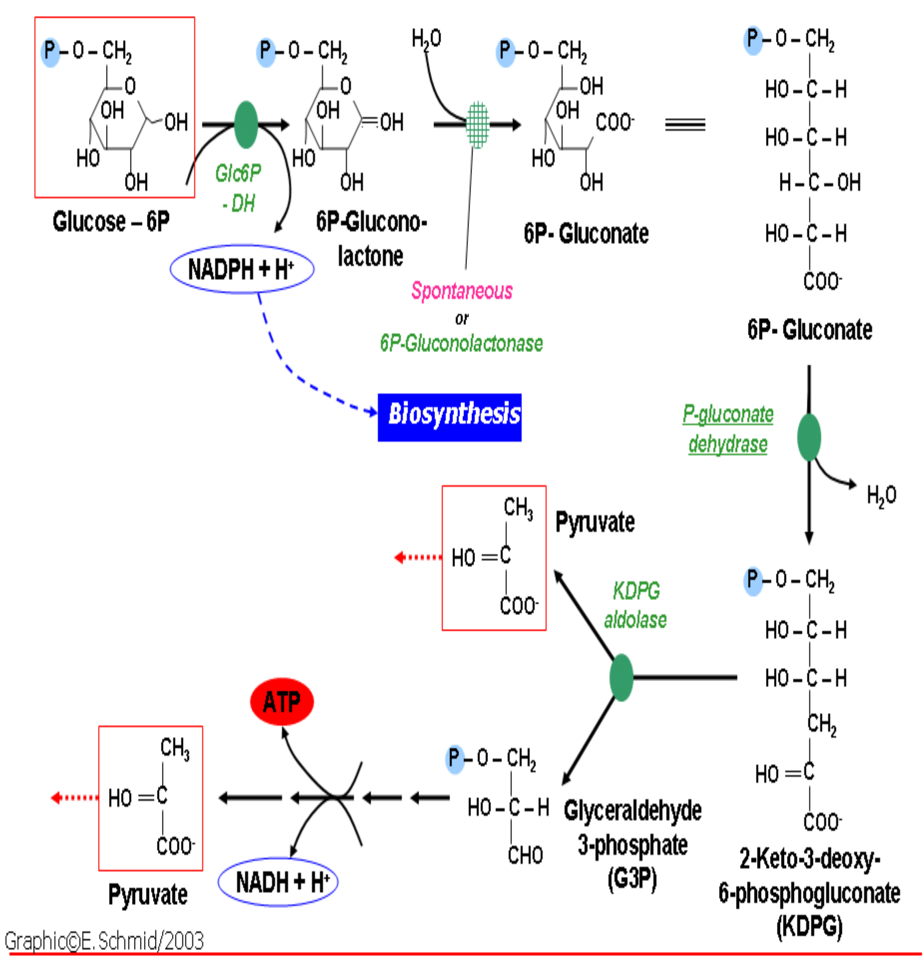
وتتميز بكتريا الزيموموناس بتحملها لضغط أسموزي عالى حيث تستطيع معظم سلالاتها النمو فى محاليل تحتوى على ٤٠٪ جلوكوز، وفى الوقت الذى يندر فيه وجود سلالات بكتيرية تقاوم التركيزات العالية من كحول الإيثانول نجد أن سلالات بكتريا زيموموناس موبيليس تقاوم التركيزات العالية من الكحول حيث تستمر فى عملية التخمير على درجة حرارة ٣٠ °م وحتى تركيز ١٣ ٪ كحول ، ويرجع تحملها للتركيزات العالية من الكحول إلى الطبيعة الغير عادية لتركيب غشاء الخلية ، وعلى الرغم من مميزات الزيموموناس موبيليس إلا أنها لم تحل محل الخميرة فى الإنتاج الصناعى الضخم للكحول ، ويرجع ذلك إلى اعتبارات تتعلق بميتابوليزم الكربوهيدرات فى الزيموموناس فهى تستخدم ثلاث مواد فقط هى الجلوكوز والفركتوز والسكروز ، يؤدى النمو على السكروز والفركتوز إلى تحويل ١٠ ٪ منها أو أكثر إلى مواد أخرى غير الكحول مثل الداى هيدروكسى أسيتون والمانيتول والجليسرول.

وبعد تكون حمض البيروفيك يتأكسد إلى أسيتالدهيد ثم يتأكسد الأسيتالدهيد إلى إيثانول.

ولقد أمكن بتقنية الهندسة الوراثية نقل بعض جينات الزيموموناس المسئولة عن إنتاج الكحول مثل الجينات الخاصة بإنزيمات **Alcohol dehydrogenase**

و **decarboxylase Pyruvate** إلى بكتريا القولون ***Escherichia coli*** التى بإمكانها تمثيل أى سكر إلا أنها لا تنتج الكحول ، وقد أصبح بإمكان بكتريا القولون إنتاج كحول من السليولوز أو أى مخلف نباتى.

وكذلك تسلك بكتريا ***Sarcina ventriculi*** سلوك الخميرة فى إنتاج الإيثانول ، وذلك عن طريق دورة الفركتوز ١, ٦داى فوسفات, بينما تنتج بعض أنواع الكلوستريديا والإنتروباكتريا إيثانول كمنتج ثانوى من أسيتالدهيد وينتج هذا الأسيتالدهيد من خلال اختزال أسيتيل **CoA** وليس من البيروفات .



شكل (٨–٩) : مسار **Entner –Doudoroff pathway** لإنتاج الإيثانول بواسطة بكتريا ***Zymomonas mobilis***

أما بكتريا ***Leuconostoc mesenteroides*** وهى من بكتريا حمض اللاكتيك فإنها بكتريا خليطة التخمر وتنتج إيثانول من خلال دورة فوسفات البنتوز ، حيث تحول زيليولوز-٥- فوسفات إلى مركبات وسطية تختزل إلى جليسرول وحمض لاكتيك كما هو موضح بالمعادلات الأتية:

Xylulose -5- phosphate+pi ⟶ Acetyl phosphate+Glyceraldehyde-3- phosphate

Acetyl phosphate ⟶ Ethanol

Glyceraldehyde-3- phosphate ⟶ Pyruvate ⟶ Lactate

التلوث الذى يحدث أثناء التخمير

١-الإصابة بالبكتريا

يعتبر تلوث المخمرات بالبكتريا غير المرغوب فيها من أهم العوامل التى تؤدى إلى لحصول على منتجات غير مرغوب فيها وتكون النتيجة هي انخفاض محصول الإيثانول ، لذلك يجب اتخاذ الاحتياطات التى تمنع حدوث مثل هذا التلوث ، ومن أهم المؤشرات التى يمكن قياسها للتنبؤ بحدوث التلوث هي كمية حمض الخليك فى المخمر إذ أن وجود كمية كبيرة يمكن قياسها من حمض الخليك فى المخمر تعتبر مؤشر على حدوث تلوث بكتيرى شديد ، ذلك لأن حمض الخليك يؤثر على نمو الخميرة وعل نشاطها التمثيلي لدرجة أنه يمكن اعتبار أن حمض الخليك هو أحد والعوامل الرئيسية لتثبيط التخمير ، ولكن يجب أن ننوه إلى أن وجود حمض الخليك لا يعنى دائما حدوث تلوث بكتيرى لان الخميرة نفسها تنتج هذا الحمض بكميات قليلة , كذلك أوضحت بعض الدراسات أن تلوث مهروس الذرة ببكتريا **Lactobacilli** في حالة التخمر المتقطع أدى إلى :

أ- انخفاض محصول الإيثانول.

ب-زيادة تحول المواد الكربوهيدراتية إلى جليسرول وحمض لاكتيك.

ج-انخفاض تكاثر الخميرة في مهروس الذرة التى يحتوى بالفعل على أعداد كبيرة من بكتريا **Lactobacilli** .

ولكن تحت ظروف التخمير شبة المستمر فإن أعداد البكتريا الملوثة انخفضت وذلك بعد عدد من دورات التخمر المتتالية ووصلت إلى أعداد لم تسبب مشكلة بالنسبة لإنتاج الإيثانول أو حيوية الخميرة ويرجع انخفاض العداد Lactobacilli إلى سببين هما :

- انخفاض العناصر الغذائية المتاحة للبكتريا بسبب التنافس بينها وبين الخميرة حيث أن الخميرة تستهلك كمية أكبر من المواد الغذائية مما يجعل التنافس لصالحها .
- تثبيط بكتريا Lactobacilli بواسطة الإيثانول الناتج .

أما إذا كان التلوث بعدد كبير من بكتريا Lactobacilli وأخذت البكتريا فرصة للنمو قبل نمو الخميرة فان الفقد فى محصول الإيثانول يصل إلى ٢٥٪ أى أن نسبة الفاقد في الإيثانول تتوقف على مدى شدة التلوث ، وعلى الرغم من بكتريا Lactobacilli لا تنتج الجليسرول فى غياب الخميرة إلا أن إنتاج الجليسرول بواسطة الخميرة يزداد فى وجود بكتريا Lactobacilli والسبب فى ذلك غير معروف.

ولمقاومة تلوث بيئة التخمر بالبكتريا يتم خفض رقم الpH ليكون ٥ أو اقل ولكن بدأ منتجى الإيثانول فى الفترات الأخيرة إضافة البنسلين إلى المخمرات لكي يثبط من نمو بكتريا حمض اللاكتيك، ولقد وجد أن التلوث الشديد قد ينتج عنه ارتفاع فى درجة الحرارة تزيد عن سعة التبريد الخاصة بالمخمر وأن التلوث بمستوى من البكتريا يزيد عن $١٠^{٨}$ خلية / مل يسبب فقد فى إنتاج الإيثانول مقداره ٥٪ ، أما بالنسبة للتلوث ببكتريا حمض اللاكتيك يؤدى إلى ففقد فى إنتاج الإيثانول بنسبة ٢٠٪.

كذلك يحدث تلوث ببكتريا مجموعة القولون حيث تقوم هذه المجموعة من البكتريا بتحويل الجلوكوز إلى خليط من الهيدروجين وثانى أكسيد الكربون وحمض الخليك والإيثانول والأسيتون بنسب مختلفة تختلف باختلاف نوع البكتريا الموجودة

وهذه البكتريا تفسد عملية التخمر وخصوصاً إذا كانت أعداد الخميرة منخفضة ولا تستطيع أن تنجز التخمر بدرجة سريعة.

أيضاً، يمكن أن يحدث تلوث لعملية التخمير أثناء إنتاج الإيثانول ببكتريا الكولستريديم حيث تستطيع هذه البكتريا أن تحول الجلوكوز إلى أسيتون وحمض خليك وبيوتانول وحمض بيوتيريك وهيدروجين وثانى أكسيد كربون ، والسبب الرئيسى للتلوث بهذه البكتريا هو أن جراثيمها تعيش فى درجات حرارة عالية حيث أنها تتحمل درجات حرارة إعداد المهروس وهى تحويل نشا الحبوب إلى سكريات قابلة للتخمر ، كما أن الظروف غير الهوائية التى غالباً ما تتوفر في بعض مراحل التخمر تساعد على نشاط هذه البكتريا .

كذلك قد يؤدى التلوث ببكتريا حمض الخليك أيضاً إلى نقص معنوى فى كمية الإيثانول الناتجة ذلك لان المادة الخام لبكتريا حمض الخليك هى الإيثانول الناتج بواسطة الخميرة ، فإذا ما تواجدت بكتريا حمض الخليك فإنها تقوم بتحويل الإيثانول إلى أسيتالدهيد ثم إلى حمض خليك ، ومن المعروف أن بكتريا حمض الخليك تحتاج إلى هواء ولذلك فان التفاعل التى تقوم به يحدث عندما لا يتم استخلاص الإيثانول الناتج بعد انتهاء عملية التخمير مباشرة دون الانتظار ولو لبعض الوقت كما يحدث في بعض المصانع التى تدار بواسطة موظفين ليست لديهم خبرة ميكروبيولوجية ، وبصفة عامة فان الفقد فى إنتاج الإيثانول الذي يحدث بواسطة تلوث البكتريا يتوقف على نوع هذه البكتريا وعددها والوقت المتاح لها لكي تقوم بتمثيل الجلوكوز أو الإيثانول.

ضبط الإنتاج والجودة

على الرغم من أن التخمر يعتبر أقدم عملية ميكروبيولوجية تم معرفتها إلا أنه فى حالات كثيرة مازال ينظر إليها على أنها فن أكثر منها علم ، ومن أهم العوامل التي يجب مراعاتها عند إنتاج الإيثانول بغرض استخدامه كوقود :

١- التحكم في الجودة : وتشمل التحكم في مستوى المعادن الثقيلة، الحالة الحيوية للمادة الخام المستخدمة ، نسبة الرطوبة فى الحبوب ، وجود أو عدم وجود فطريات ملوثة للمواد الخام ، استخدام أجهزة حديثة لإجراء التحاليل المطلوبة وسلالة الخميرة المستخدمة.

٢- يجب الاهتمام باختيار مواد خام أولية بها نسبة عالية من السكريات القابلة للتخمر Fermentable sugars ، حيث أن وجود سكريات قابلة للتخمر هو العامل الأساسي فى نجاح عملية إنتاج الكحول.

٣- يجب استخدام أجهزة خلط جيدة تسمح بتعرض كل المادة الخام لإنزيمات التسكير Scarification .

٤- يجب التحكم فى درجة pH محلول التخمير ، حيث أن درجة pH الشائع استخدامها فى تخمر الإيثانول هو ٥,٦ ويمكن أن تنخفض إلى ٣,٨ ، لكن أى انخفاض أقل من ٣,٨ يعتبر مؤشر لحدوث التلوث بالبكتريا المنتجة للأحماض مثل بكتريا حمض اللاكتيك ، ويجب أن ننوه إلى انه يتم معايرة الحموضة داخل المخمر باستخدام محلول هيدروكسيد صوديوم ٠,١ عيارى في وجود دليل الفينول فيثالين.

٥- يجب التحكم فى كمية المواد الصلبة بالجرام / ١٠٠ جرام من محلول التخمير ويتبع هذه النقطة التأكد من استمرار تحول المتبقى من الدكسترينات إلى جلوكوز بعد بدأ التخمير.

٦- التلوث: يحب أن يكون العدد الكلي للبكتريا أقل من ٠,٠١٥ ٪ من عدد الخميرة ، ويمكن قياس عدد البكتريا بسهولة باستخدام البيئات الغذائية المتخصصة والتى تثبط نمو الخميرة حتى لا تدخل ضمن عدد البكتريا .

٧- يجب العمل على خفض أعداد البكتريا الملوثة إلى حد كبير قبل إجراء التخمير وذلك عن طريق تعقيم الأدوات وتسخين الأوعية وأنابيب الربط بين وحدات التخمير إلى أكثر من ٧٠ درجة مئوية.

٨- عدد الخميرة : يجب التأكد من تكاثر الخميرة داخل المخمر ، حيث يمكن تقدير أعداد الخميرة باستخدام الزرع المباشر على أطباق بتري المحتوية على بيئات غذائية مناسبة.

٩- الحرارة: عادة ما تكون درجة حارة التخمير ما بين ٣٠ – ٣٥ درجة مئوية ، ويجب أن نشير غالى أن الطاقة الحرارية التى تنتجها الخميرة من تخمير ٩ جرام جلوكوز هى ١,٧٩ كيلو كالورى ، وهذه الكمية من لطاقة كافية لرفع درجة حرارة البيئة المحتوية على ١٠٪ جلوكوز (وزن/حجم) بمقدار ١٧,٩ درجة مئوية ، وما يفقد بالتبخير من هذه الحرارة هو جزء صغير لا يتعدى ٥٪ ولذلك يجب التخلص من ٣٠٪ على الأقل من هذه الحرارة وخصوصا عندما تكون الخميرة فى حالة نشاط تمثيلى عالى.

١٠- الإيثانول : يمكن قياس الإيثانول عن طريق عملية التقطير أو إنزيمياً بواسطة إنزيم Alcohol dehydrogenase أو بواسطة جهاز GLC أو HPLC .

١١- يجب استخدام طريقة التغذية المناسبة والتى تضمن حدوث ثبات معظم العوامل المؤثرة فى الإنتاج أثناء عملية التخمير.

١٢- يجب تتبع الحسابات الخاصة بمحصول الإيثانول وكفاءة التخمير.

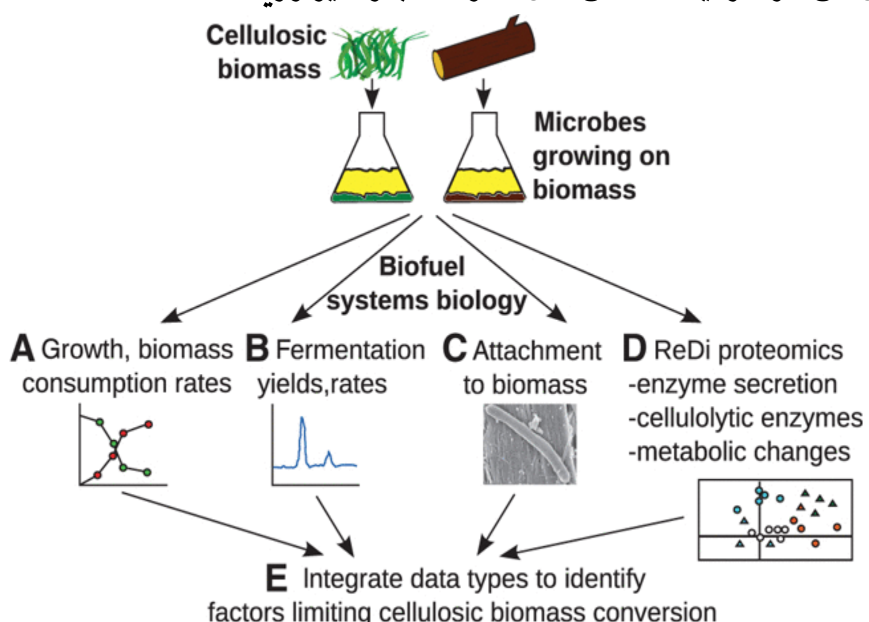
التقنيات الحديثة فى إنتاج كحول الإيثانول

تتعلق التقنيات الحديثة فى إنتاج الكحول بثلاثة أمور رئيسية وهى المواد الخام وسلالات الخمائر والعمليات الإنتاجية وسوف يستمر التغيير فى التقنيات بغرض خفض تكاليف إنتاج الإيثانول وفيما يلى سوف نلقى الضوء على التقنيات الجديدة فى مجال الأمور الثلاثة السابق الإشارة إليها.

السليولوز كمادة خام أولية

إن إمكانية الحصول على كحول الإيثانول من المواد السليولوزية يمكن أن يساهم إلى حد كبير فى تقليل تلوث البيئة لأن إنتاج الإيثانول من المواد ذات الأصل النباتى واستخدامه فى وسائل النقل لا ينتج عنه ملوثات بيئية.

ولقد أوضحت جميع الدراسات الاقتصادية أن التكلفة الكلية لإنتاج الإيثانول تعتمد بشكل كبير على سعر المواد الخام الأولية والتى تمثل ما بين ٦٠-٧٠٪ من التكلفة الكلية للإنتاج ولذلك فلابد من البحث عن تقنيات جديدة وتطويرها لإنتاج الإيثانول من مواد رخيصة الثمن مثل المواد اللجنوسليولوزية.



شكل (٨-١٠): التصور المقترح لإنتاج الوقود الحيوى من السليولوز

معالجة المواد السليولوزية قبل عملية التحلل

قبل تحويل المواد اللجنوسليولوزية إلى إيثانول فان الجزء السليولوزي في هذه المواد يجب تحليله بحيث يتحول إلى جلوكوز بقل التخمر بواسطة الميكروبات ، وتعتبر عملية إزالة اللجنين عملية ضرورية حيث وجد أن إزالة كمية كبيرة من اللجنين قبل إجراء التخمر أدى إلى زيادة قابلية المواد اللجنوسليولوزية إلى الهدم ، وفى الحقيقة فإن معالجة المواد السليولوزية هى المشكلة الرئيسة التي تحول دون استخدامها كمواد أولية لإنتاج الإيثانول وبصفة عامة يوجد أربعة طرق رئيسية للحصول على السكريات القابلة للتخمر إلى إيثانول من المواد السليولوزية وهى المعاملة بالحمض والمعاملة الإنزيمية أو المعاملة بالحمض والإنزيم معاً أو المعاملة البيولوجية وقبل كل ذلك المعاملة الفيزيائية.

المعالجة الأولية الفيزيائية Physical pretreatment

يعتبر طحن المواد السليولوزية من أحسن طرق المعالجة الفيزيائية خصوصا على المستوى الصناعي والهدف من عملية الطحن تقليل حجم الجزيئات بغرض زيادة مساحة السطح المعرض لإنزيمات ، كما أن المعالجة بالبخار (١٨٠-٢٢٠ درجة مئوية) تعتبر طريقة هامة من طرق المعالجة الفيزيائية ، حيث تعمل على هدم مجموعات الأسيتيل وتساعد على التحلل ، وعلى الرغم أن هذه الطريقة أدت إلى تحسين قابلية المواد للتحلل الإنزيمي فان تطوير هذه الطريقة إلى ما يسمى طريقة انفجار البخار تعتبر هى أكفاء طريقة فى تحسين تحلل السيليولوز بالإنزيمات ، وقد تم تطوير هذه الطريقة بواسطة الأمريكان باستخدام البخار عند ضغط جوى عالى جدا وفيها يتم فرم الخشب أولاً ثم تعريضه لبخار على درجة حرارة ٢٣٠ وضغط جوى ٥٠٠رطل / بوصة^{٢} وبعد ذلك يتم سبح المواد بشكل فجائي وسريع من المفاعل مع استمرار التقطيع الميكانيكى ، هذه العملية تؤدى إلى جعل الإنزيمات تعمل بكفاءة عالية جدا وفي تطبيق جديد لهذه التقنية فى سنوات القليلة الماضية استخدمت تقنية انفجار البخار لزيادة فاعلية التحلل الإنزيمى الميكروبي فى عمليات التسكير ثم

التخمير ، وقد اعتبرت هذه طريقة جديدة حيث تعالج المواد اللجنوسليولوزية أولا بطريقة انفجار البخار ثم تعرض لعمليات متعاقبة من التسكير الإنزيمى ثم يتم تخمير السكريات الناتجة ، والهدف الأساسي لهذه الطرق تقليل درجة تبلور السيليولوز وتحليل المواد المعقدة المكونة من السيليولوز والهمي سيليولوز ، وقد وجد أن قابلية السيليولوز للهضم تزاد كلما زادت شدة هذه المعالجة الأولية.

أولاً: المعالجة الأولية بالحمض Acid pretreatment

لقد بدأ استخدام التحليل الحمضى للمواد السليولوزية بشكل واسع بغرض الحصول على الجلوكوز أثناء لحرب العالمية الثانية حيث تؤدى هذه الأحماض إلى تفكيك السيليولوز والهمي سيليولوز واللجنين ، ومن أهم الأحماض التي تستخدم فى هذا الصدد حمض HCL، H_2SO_4 ، ويجب أن ننوه إلى أن استخدام هذه الأحماض فى المعالجة الأولية تؤدى إلى فقد جزء من السكريات القابلة للتخمر حيث تتحول السكريات الخماسية إلى فورفورال Furfural والسكريات السداسية إلى هيدروكسي فورفورالHydroxymethyl furfural إذا تمت المعالجة بالأحماض عند درجات حرارة عالية كما أن مركب Furfural فى حد ذاته يعتبر مثبط لنمو الميكروبات مما يمنع عمليات التخمر للمواد السليولوزية التى نتجت من عمليات المعالجة الكيميائية ، وعلى أى حال فإن هذه النقطة تحتاج إلى مزيد من البحث والدراسة.

ثانياً: المعالجة الأولية الإنزيمية Enzymatic pretreatment

تعتمد مدى ملائمة التحلل الإنزيمى إلى حد كبير على طبيعة المادة السليولوزية ومعالجتها قبل التحلل وللتحلل الإنزيمى مميزات بالمقارنة بالتحلل الحمضى يمكن أن نوجزها فيما يلى :

١- زيادة محصول السكر الناتج بواسطة المعالجة الإنزيمية.

٢- انخفاض تكلفة المعالجة بالمقارنة بالمعالجة بالأحماض حيث أن العملية تتم عند الضغط الجوى العادى وعند درجات حرارة منخفضة.

٣- لا يحدث هدم للسكريات الناتجة ولا ينتج عنها مواد سامة نتيجة هدم السكريات والتى قد تعوق عملية التخمر فيما بعد.

وعلى أى حال مازالت التكلفة حتي الأن هى العامل المحدد لتصميم نظام معالجة أولية إنزيمية للمواد السليولوزية حيث أن مختلف التقديرات أوضحت أن إنتاج الإنزيمات الميكروبية المحللة للسيليولوز تمثل ٥٠٪ من التكلفة الكلية للإنتاج ، وعلى الرغم من ذلك فإنه يوجد بعض التقنيات التى يمكن استخدامها لتقليل التكلفة منها:

- رفع كفاءة السلالات الميكروبية فى إنتاج كميات اكبر من الإنزيمات المحللة للسيليولوز.
- توفير الظروف المثلي لإنتاج الإنزيمات.
- إعادة استخدام الإنزيم أكثر من مرة.
- توفير الظروف المثلى لعملية التحلل الإنزيمى أثناء المعالجة.

ثالثاً: المعالجة الأولية بالحمض والإنزيم

Acid – enzyme pretreatment

هذا النظام من المعالجة يتكون من ثلاث خطوات هي:

١- إذابة المواد السليولوزية في محلول حمض الفوسفوريك.

٢- تحليل حمضى متجانس باستخدام حمض الهيدروكلوريك .

٣- تحليل إنزيمي للسلودكسترينات الذائبة إلى جلوكوز.

ويجب أن ننوه أن في هذه التجربة التى تم فيها استخدام سيليولوز نقى فى صورة مسحوق وأعطت نتائج جيدة إلى أنه قد تظهر بعض التعقيدات إذا استخدمت مادة خام غير نقية مثل نشارة الخشب أو قش الأرز والتى تحتوى على اللجنين بجانب السيليولوز ، ويعتبر الكثير من الباحثين أن هذه التقنية قد تكون بديلاً عن استخدام التحليل الحمضى للمواد السليولوزية للحصول على سكريات صالحة للتخمر إلى كحول إيثانول.

رابعاً: المعالجة الأولية الحيوية Biological pretreatment

مازالت الأبحاث مستمرة من أجل تطوير عمليات تعتمد على استخدام الميكروبات القادرة على تحليل المواد السليولوزية ، حيث وجد أن فطر ***Monillia* spp** قادر على إنتاج إنزيمات تحلل السيليولوز بجانب إنزيمات **Xylanases** قادرة على تحليل عديدات السكريات الخماسية ، كما وجد أن هذا الميكروب يمكنه أن يخمر سكر الجلوكوز والزيلوز إلى إيثانول، وفى دراسة أخرى تضمنت طريقة حيوية لتسكير قش القمح حيث اعتمدت على نزع اللجنين من القش بطريقة كيميائية بعد طحنه ثم استخدام فطر محلل للسيليولوز هو ***Trichoderma veridi*** فى التسكير ، ثم تم فصل الفطر عن البيئة بواسطة الطرد المركزي فى الوقت المناسب قبل أن يتغذى الفطر على السكريات التى أنتجها ثم بسترة الراشح ، بعد ذلك تمت عملية التخمير لإنتاج الإيثانول بواسطة الخميرة ***Pachysolen tannophylus*** التى لها القدرة على تخمير السكريات السداسية والخماسية الناتجة من عملية التسكير إلى إيثانول ، وسوف تكون اقتصاديات عملية تسكير السليولوز أى تحويله إلى سكر قابل للتخمر من العمليات الاقتصادية والمربحة في المستقبل القريب نتيجة التقدم فى علوم الهندسة الوراثية.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Saccharomycetes

Order:Saccharomycetales

Family:Saccharomycetaceae

Genus:*Pachysolen*

Species:*Pachysolen tannophilus*

استخدام الحبوب التالفة وحبوب الغربلة كمواد خام

يوجد كمية كبيره من الذرة والقمح والشعير والتي تتبقي بعد عملية الفرز والغربلة يمكن استخدامها في إنتاج كحول الإيثانول , حيث تقدر كمية الإيثانول التي يمكن إنتاجها بحوالي ٢٠٨٠٠٠متر مكعب، وكذلك يوجد بعض حبوب المحاصيل التي لا تصلح للاستخدام الأدمي وبعض المواد النباتية الأخري والتي تشمل قشور الحبوب وأوراق النباتات حيث يمكن أن تستخدم جميع هذه المواد كمواد خام لإنتاج الإيثانول كوقود، ولقد وجد أن ٦٦٪ من القمح و٨٠٪ من الشعير الناتج عن الغربلة يمكن أن يستخدم لإنتاج الإيثانول.

إعادة استخدام بعض النواتج

علي الرغم من استخدام النواتج الثانوية لإنتاج الإيثانول فى علائق الحيوانات إلا أن ذلك لا يتم إلا بعد تكلفة عالية خاصة بإزالة الماء منها بالتبخير، ويوجد الأن عمليتان رئيسيتان يمكن من خلالهما الاستفادة من نواتج التقطير الوسطية فى تغذية الخميرة لأن المواد الغذائية التى تنطلق إلى البيئة الغذائية فى نهاية التخمير وتتركز فى نواتج التقطير لها قيمة غذائية مفيدة لخلايا الخميرة الجديدة التى تنتج أثناء تكاثر الخميرة كما أن هذه المواد تحسن من عملية تكيف الخميرة مع التركيزات العالية من الإيثانول, أما العملية الثانية فهى إعادة استخدام كل نواتج التقطير السائلة فى تخفيف المهروس الذي سوف يدخل فى التخمير التالى، ويجب بسترة نواتج التقطير على ٧٠ °م لتجنب مشكلة التلوث التى يمكن أن تحدث من هذه المواد وكذلك يجب تمرير البخار فى كل خطوط الإنتاج، ومما هو جدير بالذكر أن بعض المصانع التى تنتج الإيثانول من المولاس تعيد استخدام ٦٠-٨٠٪ من نواتج التقطير بدون أي تأثير سلبى على إنتاج الإيثانول، حيث أظهرت نتائج بعض البحوث إلى أن إعادة استخدام نواتج التقطير فى تخمير القمح بنسبة ١٠٠٪ لمدة خمس دورات تخمير متتالية لم تؤدى إلى ظهور أية مشاكل، وحيث أنه يتم استخدام كميات كبيرة من الماء أثناء التخمرات وأن المخلفات عموماً عالية فى

محتواها من المادة العضوية فإن إعادة تدوير نواتج التقطير تعتبر مفيدة فى تقليل تكاليف الإنتاج وخصوصاً فى تخمرات الإيثانول.

استخدام التخمر شبه المستمر

Use of semi-continuous fermentation

لقد كان التخمر المتقطع هو السائد على مدى السنوات الماضية وذلك لسهولة تنفيذه وإمكانية استخدام عمالة ليست على قدر كبير من المهارة وانخفاض تكاليفه، إلا أن التخمر شبه المستمر يقلل الوقت اللازم للإنتاج كثيرا ويزيد من إنتاجية الإيثانول بمعدل يفوق معدل الإنتاج فى التخمير المتقطع بمقدار ٣-٤ مرات, وبالرغم من ذلك فإن التخمر شبه المستمر لم يتم استخدامه حتى الأن بشكل كبير ، ويستخدم في البرازيل تقنية تدوير خلايا الخميرة فى التخمير المتقطع حيث يتم الحصول على خلايا الخميرة عن طريق الطرد المركزى ثم يعاد تلقيح المخمرات بهذه الخلايا، ويجب أن ننوه إلى أن التخمر شبه المستمر يقلل التلوث بالميكروبات الأخرى، وفى التخمر شبه المستمر يمكن استخدام تركيزات عالية من السكر فى المادة الخام مما يؤدى إلى زيادة معدل التخمير ، وفى حالة التخمر شبه المستمر فإن حجم المخمر يكون أقل بسبب استخدام تركيزات عالية من السكر ، كما أن عملية استخلاص الكحول عن طريق التقطير تكون منخفضة أيضاً، ولقد وجد أن إنتاجية الإيثانول عن طريق التخمر شبه المستمر تزيد بمقدار ٢٠٠٪ عن التخمر المتقطع.

إنتاج الكحولات عديدة الهيدروكسيل (الجليسرول)

Production of Glycerol

على الرغم من أن إنتاج الجليسرول عن طريق الخميرة يعتبر غير اقتصادي بالمقارنة بعملية إنتاجه كيماويا التى تعتمد على التصبن القلوى للدهون، ولتوضيح كيفية إنتاج الجليسرول فلنتذكر أن الناتج النهائى لعملية تحمر الجلوكوز هو حمض البيروفيك ، وكما هو معروف أن حمض البيروفيك يدخل فى عدة تفاعلات تختلف باختلاف الظروف البيئية والميكروب الذى يقوم بالتفاعل، ومن هذه التفاعلات دخول حمض البيروفيك فى تفاعلات التخمر الكحولى ، وأول خطوة هى نزع مجموعة الكربوكسيل منه ليتحول إلى أسيتالدهيد ، ولكى يتم إنتاج الجليسرول لابد من التدخل لتعديل مسار التخمر الكحولى بحيث لا يستمر فى إنتاج الكحول ، ويتم هذا التعديل بإيقاف التفاعل عند نقطة الأسيتالدهيد بمجرد تكونه فى الخطوة الأولى ويتم ذلك بعدة طرق منها إضافة مادة بيكبريتيت الصوديوم والتى تكون مركب مع الأسيتالدهيد لا يدخل فى التفاعل ، وبذلك لا يعمل الأسيتالدهيد كمستقبل للأيدروجين فى عملية إعادة أكسدة $NADH_2$ ويختزل إلى كحول ، وبدلاً من ذلك يصبح السكر الثلاثى ثنائى هيدروكسي أسيتون فوسفات هو مستقبل الأيدروجين ويتكون الجليسرول كما يلى:

$$\begin{matrix} CH_2OPO_3H_2 \\ | \\ CO \\ | \\ CH_2OH \end{matrix} + NADH_2 \longrightarrow \begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{matrix} + NAD$$

ويوجد بعض أنواع من الخمائر تتميز بقدرتها العالية علي تخمير السكريات وإنتاج الجليسرول مثل:

Saccharomyces cerevisiae , Saccharomyces rouxii ,Torulopsis magnolia and Pichia farinosa.

وفى عملية إنتاج الجليسرول عن طريق التخمر يضاف ميكروب الخميرة فى بيئة تتكون من ١٠-٢٠٪ سكروز، ٠,٥ ٪ نترات أمونيوم، ٠,٠٧٥٪ فوسفات ثنائى البوتاسيوم ،٤٪ كبريتيت صوديوم ، أثار من كبريتات الماغنسيوم المائية ويتم التخمير فى مخمرات ذات أحجام كبيرة عند درجة ٣٠° م ولمدة ٦٠ ساعة وأثناء التخمير يتكون غاز ثانى أكسيد الكربون الذى يؤدى إلى تكوين البيكبريتيت وذلك كمايلى:

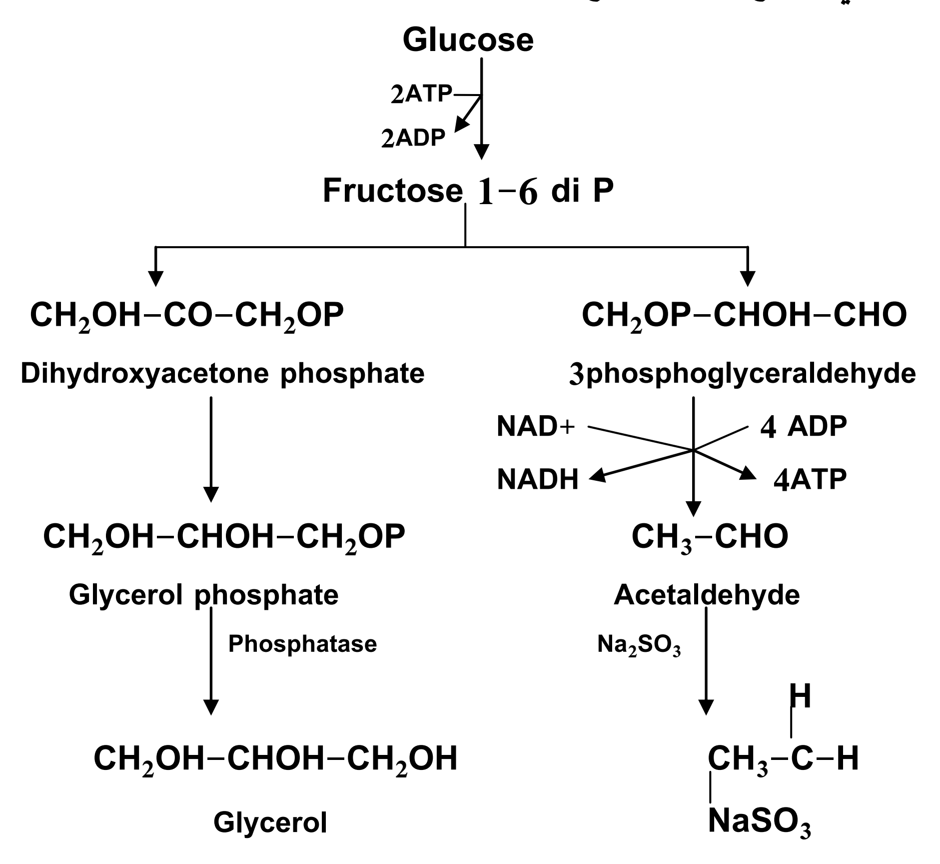
$$NaSO_3 + CO_2 + H_2O \longrightarrow NaHSO_3 + NaHCO_3$$

والبيكبريتيت المتكون يثبت الأسيتالدهيد فى شكل المركب $CH_3CH(OH)SO_3Na$ الذى يعمل فى نفس الوقت كمادة مانعة لأي ميكروبات ملوثة للبيئة ويجب الحفاظ على pH البيئة أثناء التخمير عند ٦,٨ وذلك بإضافة ثانى أكسيد الكبريت، وعندما يستهلك السكر الموجود فى البيئة يتم حصاد بيئة التخمير ثم يروق السائل المتحصل عليه ويقطر لإزالة أي كميات من الكحول والأسيتالدهيد ، ثم بعد ذلك يركز السائل ويبرد لإزالة كبريتيت الصوديوم المتبقى عن طريق البلورة، وتسمى هذه الطريقة المستخدمة فى إنتاج الجليسرول بطريقة الكبريتيت الذائب حيث تم الحصول على سائل متخمر يحتوى على ١٨٪ جليسرول ، وتوجد طريقة أخرى لإنتاج الجليسرول تسمى الطريقة القلوية والتخمير فيها مشابه للطريقة السابقة ولكن يتم فيها الحفاظ على قلوية البيئة عن طريق إضافة كربونات الصوديوم الصلبة بشكل منتظم خلال ال٢٤ ساعة الأولى من التخمر ،وهذه القلوية تضمن تثبيت الأسيتالدهيد عن طريق تفاعل Canizaro وبالتالى لا نحتاج إلى إضافة الكبريتيت الذائب، ودرجة القلوية الشديدة هذه تجعل من المهم اختيار سلالات من الخميرة قادرة على هدم الكربوهيدرات تحت هذه الظروف ، ويمكن بهذه الطريقة الحصول على سائل متخمر يحتوى على ٢٥٪ جليسرول ، وعلى أية حال فإن مستويات الجليسرول المتكون أثناء تخمر الإيثانول يتحكم فيها عدد من العوامل أهمها:

- تركيز السكر القابل للتخمر.
- درجة حرارة التخمر.

- سلالة الخميرة المستخدمة فى إنتاج الإيثانول.
- مستوى الأكسجين فى بيئة التخمير.
- قيمة رقم pH محلول التخمير.
- مستويات الأملاح والكبريتيت فى المهروس.

والمخطط التالي يوضح خطوات إنتاج الجليسرول بواسطة الخميرة



شكل (٨-١١): خطوات إنتاج الجليسرول بواسطة الخميرة

ويستخدم الجليسرول علي نطاق واسع في إنتاج المواد الراتنجية وفي صناعة الأدوية ومعاجين الأسنان وصناعة الصابون ولقد ظهر الاهتمام في السنوات الأخيرة بإنتاج الجليسرول بالطرق البيولوجية لأسباب تتعلق بصحة الإنسان وأيضاً لارتفاع أسعار المواد الخام المستخدمة في التخليق الكيميائى، ويستخدم الجليسرول فى العديد من الصناعات مثل صناعة الحلويات والأيس كريم وفى صناعة بعض أنواع الورق

ومستحضرات التجميل ، ولإنتاج الجليسرول يتم تنمية الخميرة في بيئة تحتوى علي تركيز عالى من الأملاح الذائبة حتى يتكون بداخلها الكحول بكمية كافية ثم تنقل الخميرة بعد ذلك إلي بيئة غذائية بها تركيز منخفض من الأملاح ثم تجرى عملية تنقية للجليسرول ، تكون الجليسرول أثناء عملية التخمر الكحولى كمنج ثانوى حيث يتكون ١- ٣ ٪ جليسرول.

ويستخدم فى إنتاج الجليسرول أيضاً الطحلب المحب للملوحة الذى يسمى *Dunaliella salina* الذى يلجأ إلى تكوين الجليسرول فى الخلايا أثناء نموه فى بيئة عالية الملوحة تتراوح ما بين ٥-١٠٪ كلوريد صوديوم.

إنتاج الأسيتون والبيوتانول Acetone & butanol production

يمكن استخدام المخلفات الكربوهيدراتية القابلة للتخمر كمصدر كربونى مناسب في بيئة التخمير حيث يستعمل المولاس بعد تعديل نسبة السكر به إلي ٥-٦٪ مع إضافة كبريتات الأمونيوم وضبط الـ pH عند ٧,٢ وفي بعض الأحيان يمكن استخدام مهروس الذرة بنسبة ٦-٩٪ من البيئة، ويختلف الميكروب المستخدم في التخمير علي حسب المصدر الكربوهيدراتى في البيئة ، حيث يستخدم ميكروب *Clostridium acetobutylicum* في حالة استخدام مهروس الذرة ، بينما يستخدم ميكروب *Cl, saccharoacetobutylicum* في حالة استخدام المولاس.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Firmicutes

Class:Clostridia

Order:Clostridiale

Family:Clostridiaceae **Genus:** ***Clostridium***

Species: ***Clostridium acetobutylicum***

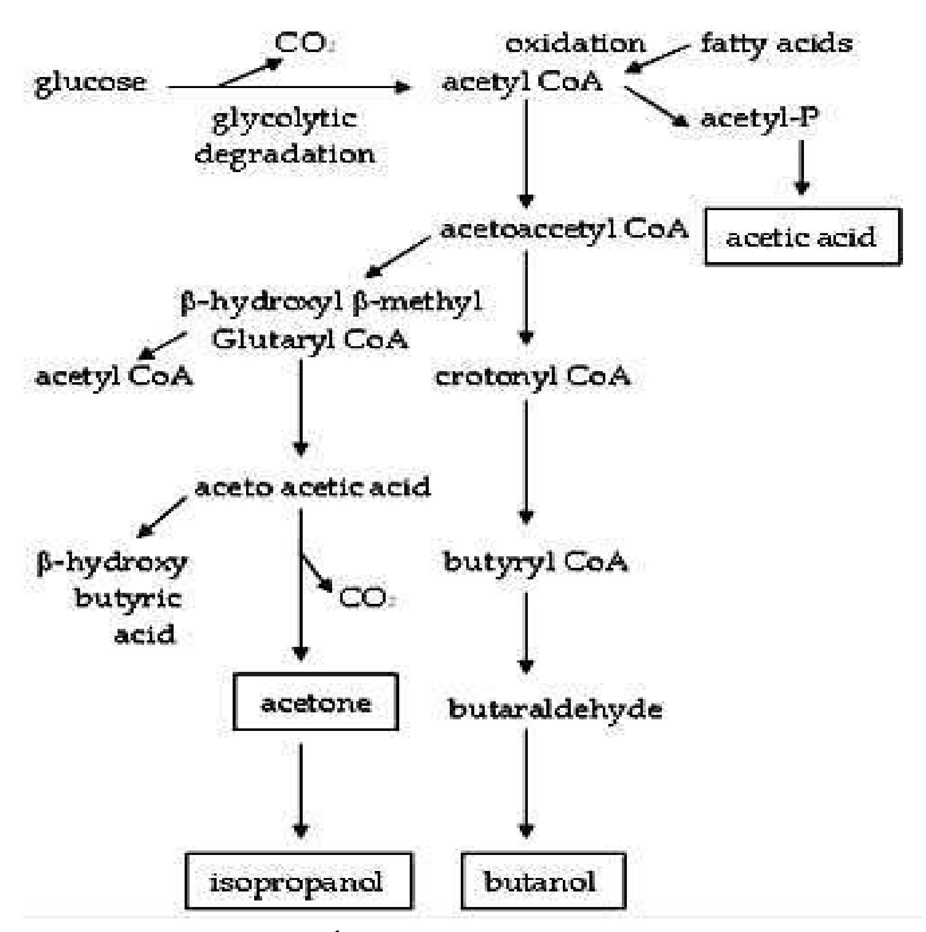
Cl. saccharoacetobutylicum

عملية الإنتاج Production process

يضاف اللقاح إلي بيئة التخمير بنسبة ٥٪ من حجم البيئة ويتم التحضين علي درجة حرارة ٣٧ ° م تحت ظروف لاهوائية ، ويتم التخمر في حوالى ٣ أيام وينتج مخلوط من المركبات عبارة عن البيوتانول والأسيتون والإيثانول بنسبة ٦ : ٣ : ١ ، أى أن الإنتاجية لكل مذيب تصل إلى ١,٢، ٠,٦، ٠,٢٪ علي التوالى ، بعد ذلك تستخلص المركبات الناتجة بالتقطيرDistillation، ويستعمل الأسيتون كمذيب عضوى وفى صناعة المفرقعات وفى تحضير الصموغ، بينما يستعمل البيوتانول فى صناعة البويات والبلاستيك وفى إنتاج الإسترات التى تستعمل كمادة واقية للأسطح.

خطوات التخمر Fermentation steps

يتم تحلل المواد الكربوهيدراتية المعقدة إلى الجلوكوز، وفى الظروف اللاهوائية يتحول الجلوكوز من خلال مسار Embeden- Meyerhof- Parnas pathway إلى حمض البيروفيك والذى يمر بعدة مراحل حتى تتكون المنتجات النهائية وذلك بواسطة البكتريا المحللة للسكريات وهى *Clostridium acetobutylicum* أو بكتريا *Cl, saccharoacetobutylicum* ويوضح شكل (٨-١٢) هذه المراحل.



شكل (٨-١٢): مراحل التخليق الحيوي للأسيتون والبيوتانول

خطوات تكوين حمض البيوتيريك

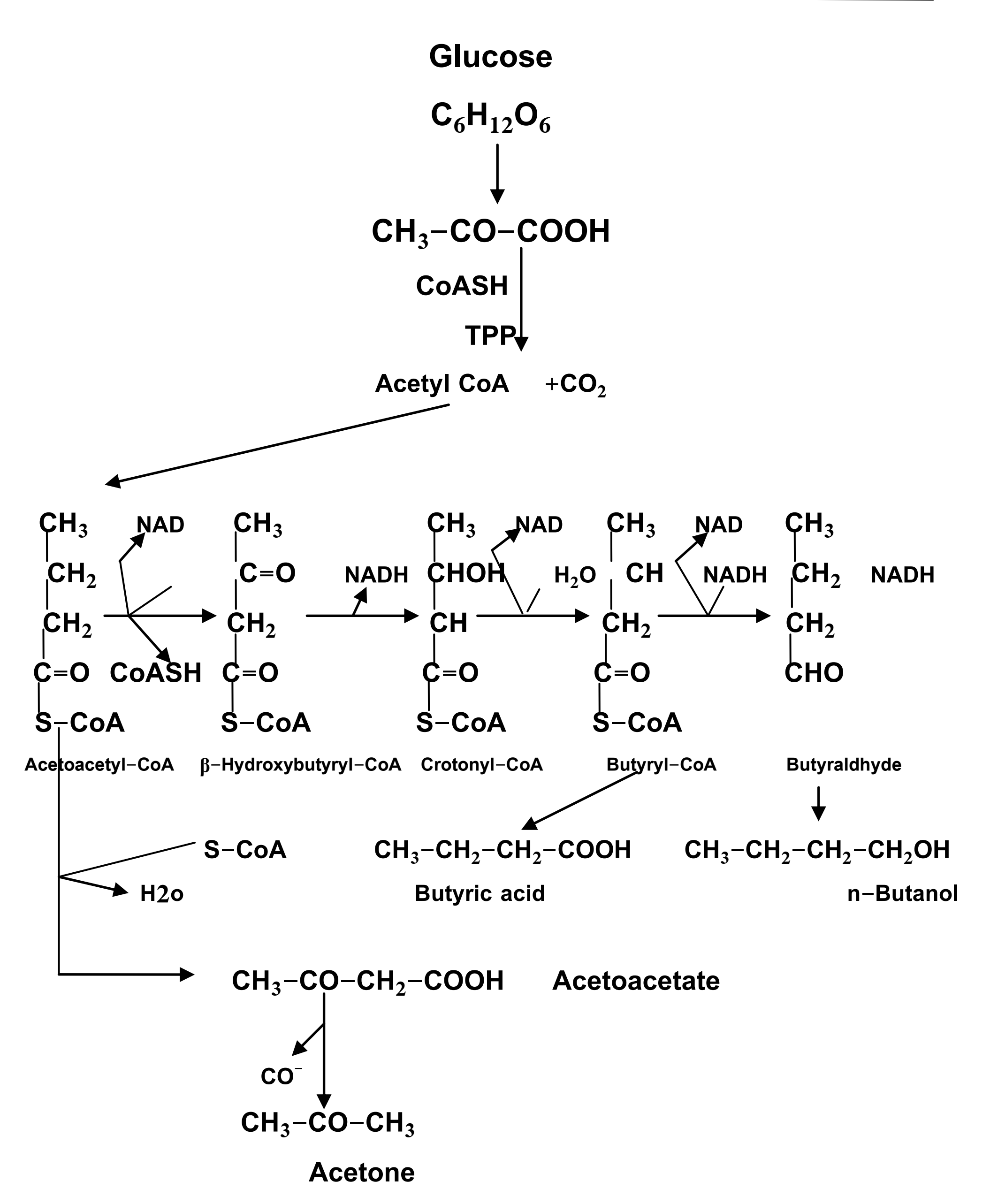
يحدث تكاثف لجزيئين من Acetyl-CoA ويتكون Acetoacetyl-CoA فى وجود إنزيم Acetoacetyl-CoA acetyltransferase ، ثم يختزل مركب Acetoacetyl-CoA إلى مركب β-hydroxybutyryl- CoA وذلك فى وجود إنزيم Hydroxybutyrate dehydrogenase ، ثم يفقد مركب β-hydroxybutyryl- CoA جزئ ما ء ويتكون مركب Cortonyl-CoA فى وجود إنزيم Enoyl hydrase ، ثم يختزل مركب Cortonyl-CoA إلى Butyryl-CoA ثم يتحول مركب Butyryl-CoA إلى Buytric acid .

خطوات تكوين الأسيتون

يتحد مركب Acetoacetyl–CoA مع Acetic acid ويتكون مركب Acetoacetate وينفرد Acetyl–CoA بعد ذلك يتحول مركب Acetoacetate إلى الأسيتون بواسطة نزع جزئ CO_2 فى وجود إنزيم Acetoacetate decarboxylase.

خطوات تكوين كحول البيوتانول

يتحول مركب Butyryl–CoA إلى مركب Butyraldehyde فى وجود إنزيم Aldehyde dehydrogenase ثم يتحولButyraldehyde إلى البيوتانول , ومن الجدير بالذكر أن أقصى إنتاجية من هذه المذيبات يمكن الحصول عليها بعد ٥٠–٦٠ ساعة من التحضين حيث يتوقف ذلك على نوع السلالة المستخدمة ، كما تلعب المواد الخام دورا هاماً فى الإنتاجية ومن أهمها المواد النشوية والمولاس ومخلفات صناعة الورق ويجب أن تتراوح نسبة السكر فى الإنتاج من ٥–١٠ ٪ ومن أفضل مصادر النيتروجين لإنتاج هذه المذيبات كبريتات الأمونيوم ومخلف نقيع الذرة ومستخلص الخميرة ، ويجب أن تحتوى بيئة التخمير على مصدر فوسفاتي مناسب مثل فوسفات الكالسيوم ، كما أن المواد الخام المستخدمة تحتوى على بعض العناصر الهامة فى عملية التخمير مثل الحديد والماغنسيوم والكالسيوم وبعض العناصر الصغرى ، ويجب أن ننوه إلى أن أنسب درجة حرارة تحضين هى ٣٥–٣٧ °م وأنسب درجة أس هيدروجيني من ٦–٦,٧ ، والمعادلات الرمزية التالية توضح مسارات التخليق الحيوى للأسيتون والبيوتانول وحمض البيوتيريك.



شكل (٨-١٣): تكوين البيوتانول وحمض البيوتيريك والأسيتون من تخمر الجلوكوز

الفصل التاسع
إنتاج الأحماض العضوية

إنتاج حمض الخليك(الخل) Vinegar production

تعتبر صناعة الخل من الصناعات القديمة جدا التي عرفها الإنسان، حيث استخدام الرومان واليونانيون الخل المخفف كمشروب منعش وذلك بتعريض النبيذ للهواء الجوي، ومعني كلمة(الخل) النبيذ الحمضي ، ولقد استخدم الإنسان هذا النوع من التخمر دون معرفة مسبباته، إلي أن جاء باستير عام ١٨٨٦ م ودرس هذه الظاهرة بالتفصيل وأثبت أن تعقيم النبيذ يمنعه من التخمر حتى في وجود الهواء, ومنذ ذلك الوقت عرف أن ترك أي محلول به نسبة غير مرتفعة من الإيثانول عند تعرضه للجو يعطي الفرصة لنمو البكتريا الخاصة بأكسدة الإيثانول إلي حمض الخليك وهي بكتريا حمض الخليك، وتوجد هذه البكتريا بكثرة في الطبيعة وتكثر علي سطح ثمار الفاكهة والخضر وفي العجين والتربة والهواء والمحاليل السكرية، ويمكن تقسيم بكتريا حمض الخليك إلي جنسين هما ***Acetobacter,Gluconobacter*** وتعمل أفراد جنس ***Gluconobacter*** علي أكسدة الإيثانول إلي حمض الخليك، ومن أهم السلالات المستخدمة ***Gluconobacter oxydans*** خصوصاً في طريقة الإنتاج باستخدام المزارع السطحية حتى عند التلقيح بمزرعة نقية، أما أفراد جنس ***Acetobacter*** فتعمل علي أكسدة الإيثانول إلي حمض الخليك ثم إلي ثاني أكسيد الكربون والماء، ومن أهم الأنواع المستخدمة علي المستوي التجاري ***Acetobacter aceti***.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Alphaproteobacteria

Order:Rhodospirillales

Family:Acetobacteraceae

Genus:*Acetobacter*

Species:*Acetobacter aceti Acetobacter schutzenbachii,*

Acetobacter curvum Acetobacter orleanese

Genus:*Gluconobacter* **Species:*Gluconobacter oxydans***

خطوات تكوين الخل

عملية إنتاج الخل تتم علي مرحلتين هما:

١- المرحلة الأولى : وهي التخمر اللاهوائى للمواد السكرية بواسطة الخميرة لإنتاج الكحول الإيثيلى.

سكريات ←(تخمر كحولي) كحول إيثانول

٢-المرحلة الثانية: وهي أكسدة الكحول إلي حمض خليك ، وتحدث هذه المرحلة تحت الظروف الهوائية بواسطة بكتريا حمض الخليك والتي من أهم أنواعها *Acetobacter aceti*،حيث يتأكسد الإيثانول إلى أسيتالدهيد، ثم تتم عملية إضافة جزء ماء ويتكون أسيتالدهيد مائي ، يعقبها عملية أكسدة ثانية لمركب الأسيتالدهيد المائي ويتكون حمض الخليك كما يلي .

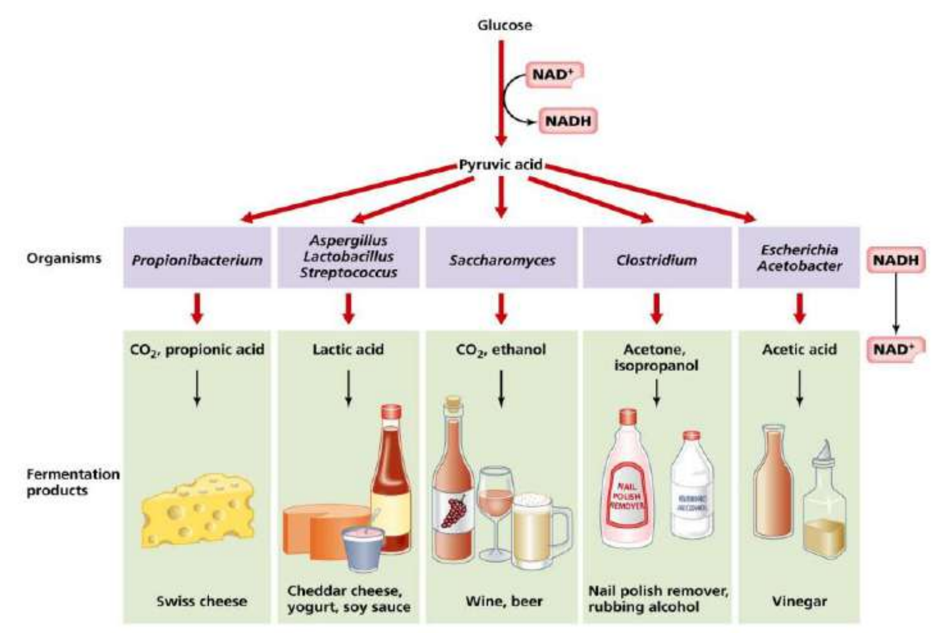
$$CH_3CH_2OH \longrightarrow CH_3CHO \longrightarrow CH_3CH(OH)_2 \longrightarrow CH_3COOH$$

Ethanol Acetaldehyde Acetaldehyde hydrate Acetic acid

وينتج أثناء عملية الأكسدة ١ مول إيثانول ، ١ مول حمض خليك ، ٦ جزئ ATP ، وعند استخدام لتر كحول إيثانول ينتج عنه لتر حمض خليك ١٢ ٪ ، والخل الناتج عبارة عن محلول حمض الخليك فى الماء بنسبة ٥- ٨٪ ، ويوجد من الخل أصناف عديدة على حسب المحلول الأصلي الذي يحضر منه مثل خل التفاح الذي ينتج من التخمر الكحولى لعصير التفاح ، خل سكر الذرة الذي ينتج من تخمر سكر الذرة ، خل المولت الذي يحضر من منقوع الشعير المنبت ، الخل الأبيض وهو ناتج من صناعة تقطير الكحول.

عملية الإنتاج

يمكن استخدام السائل الناتج من تخمر السكريات الموجودة في مخلفات التصنيع الغذائى تحت الظروف اللاهوائية في إنتاج الخل وذلك بعد ضبط نسبة الكحول به إلي ١٠-١٣٪ ،ويستخدم لإنتاج الخل أنواع مختلفة من المخمرات تعتمد علي توفير الظروف المناسبة لأكسدة الإيثانول إلي حمض خليك حيث يمرر الكحول الذى تركيزه ١٠-١٣٪ والمضاف له المواد الغذائية المناسبة لنمو بكتريا حمض الخليك من أعلى المخمر إلي أسفل حيث يمر علي نشارة خشب تعمل كحامل لبكتريا حمض الخليك مع توفير التهوية المناسبة حيث يمرر الهواء المضغوط من أسفل إلي أعلى المخمر ، ويجب ضبط درجة الحرارة عند ٣٠°م ، أثناء مرور الكحول علي نشارة الخشب تقوم بكتريا حمض الخليك بأكسدة الإيثانول إلي خل حيث يتم تجميعه من قاع المخمر.



شكل (٩-١): خطوات التخليق الحيوى للخل بواسطة بكتريا *Acetobacter aceti*

والخل الناتج من التخمير يصل به تركيز حمض الخليك إلي ١٠٪ ثم يخفف إلي ٤-٦٪ بعد عملية التخمير ، بعد إجراء عملية التعتيق للخل وذلك بتعبئته في براميل

ممتلئة تماما لمنع نشاط البكتريا الهوائية تجرى له عملية ترشيح لترويقه ثم يعبأ في زجاجات ويبستر علي درجة حرارة ٦٠°م لعدة دقائق ، ومن أهم الاعتبارات الواجب مراعاتها عند إنتاج الخل ما يلي:

١- السلالة الميكروبية

لابد من توافر الشروط التالية في السلالة الميكروبية المستخدمة لإنتاج حمض الخليك:

- يجب أن تتحمل تركيز عالي من الحموضة.
- يجب أن تتحمل تركيز عالي من الكحول.
- يجب أن تكون لها قدرة إنتاجية عالية.

مع الأخذ فى الاعتبار أن الميكروب المنتج يختلف بالاختلاف نوع المادة الخام المستخدمة وكذلك الطريقة المتبعة فى الإنتاج ، حيث يستخدم بكتريا ***Acetobacter schutzenbachii, Acetobacter curvum*** عند إنتاج الخل بالطريقة السريعة ، بينما تستخدم بكتريا ***Acetobacter orleanese*** عند إنتاج الخل بالطريقة البطيئة ويمكن استخدام مزارع مختلطة عند الإنتاج سواء بالطريقة البطيئة أو السريعة.

٢-المواد الخام

تشمل المواد الخام المستخدمة لإنتاج الخل بعض أنواع النبيذ والمولت والمواد النشوية، ويجب تخمير المواد الكربوهيدراتية قبل البدء في عمليه الإنتاج ويتم ذلك عن طريق الخمائر الموجودة طبيعيا على هذه المواد الخام أو عن طريق إضافة بادئ منها وخاصة ***Saccharomyces cerevisiae*** var. ***ellipsoideus*** والتي تعمل على تحسين صفات الخل الناتج.

٣-تركيز الكحول

لإتمام عمليه التخمير بنجاح يشترط أن يتراوح تركيز الكحول بين ١٠-١٣٪ ويلاحظ إن انخفاض نسبته إلى أقل من ١-٢٪ يؤدى أكسده حمض الخليك مما يؤدى إلى فقد الخل الناتج للجودة بينما زيادة تركيز الكحول إلي أكثر من ١٤٪ يقلل

من معدل نمو الميكروب وبالتالي من إنتاج الحمض.

٤-التحميض

يتم ذلك عن طريق إضافة خل سابق غير مبستر كبادئ بنسبه ١٪ تقريبا إلى محلول التخمير المحتوى على الكحول.

٥- وجود الأكسجين

عمليه إنتاج الخل من الكحول تتم عن طريق الأكسدة وبالتالي لابد من توافر الظروف الهوائية وتختلف وسائل التهوية حسب طريقه الإنتاج فقد تستخدم الثقوب أو الفتحات في حالـه استخدام البراميل أو نشاره الخشب أو تستخدم التهوية الميكانيكية وذلك عن طريق دفع تيار من الهواء المضغوط.

٦-درجه الحرارة

تختلف درجه الحرارة المستخدمة حسب نوع الميكروب والطريقة المستخدمة وتتراوح الدرجة المثلى ما بين ٢٧-٢٩ °م ويلاحظ عند درجات الحرارة المنخفضة ١٢-١٥ °م ينمو الميكروب ببطء شديد وتكون حجم الخلايا صغيره كما يجب تجنب درجات الحرارة المرتفعة حتى لا يتطاير الكحول.

٧-التخزين ويراعي عند تخزين الخل النقاط التالية:

أ- ملء البراميل إلى نهايتها مع قفلها قفلا محكما لجعل الظروف لا هوائية وذلك حتى لا تنمو بكتريا حمض الخليك الضارة بعد اختفاء الكحول وتعمل على أكسده الخل وبالتالي تحوله إلى ثاني أكسيد الكربون والماء.

ب- يراعى بستره الخل قبل تخزينه للتخلص من الميكروبات التي تفسده ويتم ذلك على٦٠-٦٦ °م/٣٠ دقيقه ، ويلاحظ أنه أثناء فترة التخزين تتكون مواد مكسبة للطعم والرائحة مثل بعض الاسترات والألدهيدات وتسمي هذه العملية بالتعتيق .

ج- الترويق وتجرى في بعض الأحيان عمليه ترويق لمحلول الخل الناتج للتخلص من الشوائب والمواد غير المرغوبة، وتتم عملية الترويق إما بالطرد المركزي أو باستخدام المرشحات ، وقد يستخدم مركب بوتاسيوم فروسيانيد لإزالة اللون من المنتج النهائي.

طرق إنتاج الخل

١-الطريقة البطيئة أو الفرنسية Orleans process

تعرف باسم الأوعية المفتوحة حيث يعرض النبيذ لفعل بكتريا حمض الخليك التي تأتى له من الجو الخارجي، وتستعمل لهذا الغرض براميل خشبية حيث يوضع بكل منها حوالي ٥٠ لتر نبيذ وهى موضوعه على احد جوانبها بغرض تعريض المسطح لأكبر كمية من الهواء، يوضع بها قمع ذو أنبوبه طويلة تصل إلى قاع البراميل حتى لا يؤثر دخول المحلول على الغشاء المتكون على سطح السائل كما يوجد صنبور على أحد جوانب البرميل لخروج الخل، ويتم ملء البرميل لمنتصفه بالمحلول المتكون من خليط من النبيذ والخل غير المبستر بنسب مختلفة ، ويتم إيقاف عمليه التخمير قبل أن يتلاشى جميع الإيثانول حتي لا تبدأ البكتريا فى أكسدة الخل الناتج (Over oxidizing) نظرا لأنها موجودة فقط على السطح وتعتبر هذه الطريقة مستمرة حتى الأن.

٢-الطريقة السريعة أو الألمانية Trickle method

تم اكتشاف هذه الطريقة بواسطة العالم الألماني **Schutzenbach** في القرن التاسع عشر، وفيها تمكن من زيادة مسطحات المحلول الكحولي المعرض لفعل بكتريا حمض الخليك عن طريق استخدام نشارة الخشب الخشنة كثيرة الالتواءات والتي توجد في أحواض أو أعمده، وتصمم الأحواض بطريقه تسمح بدخول الهواء من القاع ويمر دائرياً إلي أعلي خلال المسافات البينية لنشارة الخشب.

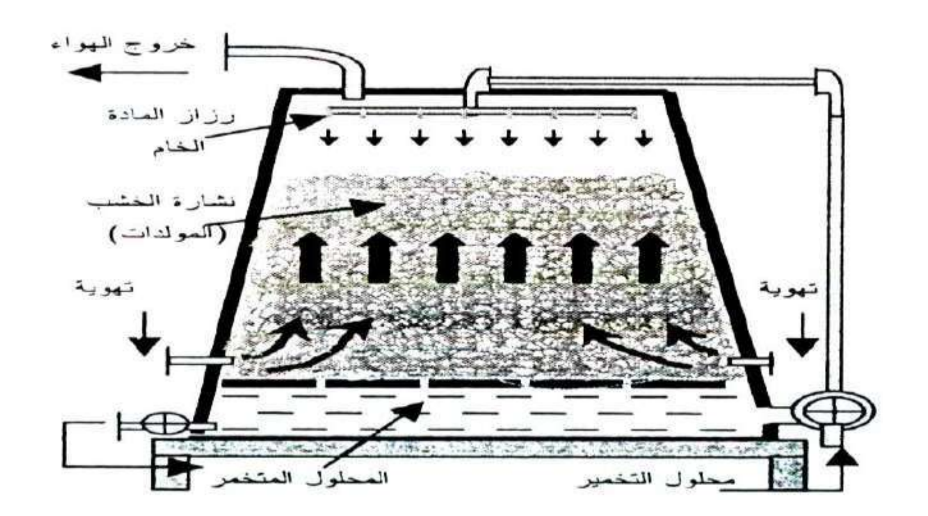
وفي هذه الطريقة تلتصق بكتريا حمض الخليك ***Acetobacter schutzenbachii, Acetobacter curvum*** علي سطح نشارة الخشب ، وتتم عملية تحويل المحلول الكحولي بكفاءة عالية إلي حمض خليك وتعتبر هذه الطريقة من أفضل الطرق المتبعة حتى الأن.

ومن أفضل التحسينات التي أضافتها هذه الطريقة إلي صناعة الخل ما يأتي:

١- التبريد يعتبر من أفضل مزايا هذه الطريقة حيث أنها تعمل علي الاحتفاظ بالحرارة

أثناء التخمر وضبط الهواء عن طريق دفعة خلال وعاء التخمير.

٢- المواد المالئة حيث وجد من التجارب والأبحاث أن نوع الخشب المستعمل له أهميه في كفاءة العملية حيث وجد أن أفضل الأنواع هو ما يعرف باسم خشب الزان.



شكل (٩-٢):الطريقة السريعة لإنتاج الخل

٣- التهوية حيث يدفع الهواء من غرفة التجميع السفلية إلي أعلى.

٤- أجهزة الضبط الحراري حيث تصل درجة الحرارة في الجزء العلوي من المخمر حوالي٢٩ °م بينما في الجزء السفلي تكون٣٥ °م .

٥- محصلة الإنتاج حيث يتم تحويل ٨٨- ٩٠٪ من الكحول المضاف إلي حمض خليك باستخدام الطريقة السريعة، بينما يستخدم بقية الكحول في تحولات غذائية أخري أو يتم تسربه مع الهواء الخارج من عملية التخمير.

ومن مساوئ هذه الطريقة ما يلي :

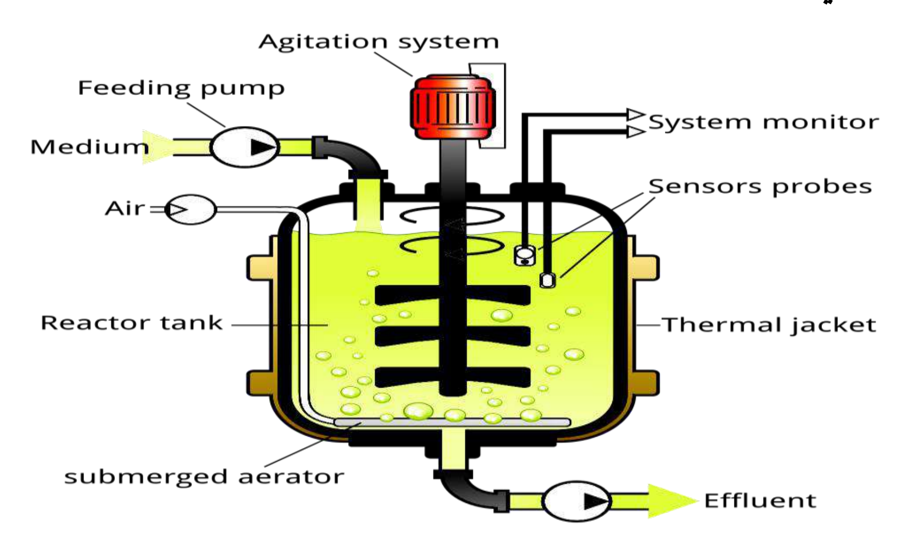
- حدوث تلوث يصعب التغلب عليه إلا بتغير محتويات المولدات من نشارة الخشب,
- وجود نسبه مرتفعة من ثاني أكسيد الكبريت في النبيذ المخزن له تأثير ضار علي بكتريا حمض الخليك عند التصنيع.
- تجديد مزرعة حمض الخليك تستهلك جهد كبير جدا.

٣- إنتاج الخل باستخدام الطريقة الدائرية

يعتبر إنتاج الخل بهذه الطريقة مبني على أساس الطريقة الألمانية حيث يتم فى أجهزة مشابهه لها إلا أنها مزودة بمضخات للهواء وأخرى لرفع السائل المتجمع وأجهزة لضبط درجة الحرارة وأنابيب تبريد وأنابيب لضبط كمية الهواء المناسب ومن أهم أجهزة التخمير المستخدمة جهاز Frings، حيث ينتج المتر المكعب من ٨-١٢كجم حمض خليك يومياً وتوجد هذه الأجهزة فى مصانع شركة الحوامدية بجمهورية مصر العربية حيث يتم إنتاج خل قوته ٦ ٪ باستخدام هذه الطريقة.

٤- إنتاج الخل بالطريقة المغمورة

يتم إنتاج الخل بهذه الطريقة فى النمسا والولايات المتحدة الأمريكية ، وفى هذه الطريقة يعمل المخمر بدون إضافة نشارة خشب وتنمو البكتريا فى جميع أجزاء محلول التخمير ، ويستخدم نبيذ الفاكهة المحتوى على تركيز منخفض من الكحول لإنتاج الخل بهذه الطريقة ، ويوضح الشكل التالي مخمر Chemap الذي يستخدم فى هذه الطريقة.



شكل (٩-٣): مخمر Chemap الذي يستخدم فى إنتاج الخل بالطريقة المغمورة

حيث يصنع الوعاء التخميرى من الصلب غير القابل للصدأ وهذا المخمر مزود بتقنية عالية للتحكم فى درجة الحرارة والتهوية ومنع تكوين الرغاوى ، ومن الجدير بالذكر أن

ظروف التخمير المناسبة هى :

١- درجة حرارة التخمير : ٣٠ °م.

٢- معدل التهوية : ٣-٤ حجم/حجم/ساعة.

٣- مدوار السرعة : ١٥٠٠ دورة / دقيقة .

مشاكل إنتاج الخل Problems of vinegar production

١- بكتريا حمض الخليك

كثيرا ما تكون بكتريا الخل نفسها هي المشكلة في الإنتاج وذلك لما لبعض أنواعها من أضرار ظاهره مثل ***Acetobacter xylinum*** والتي تتميز بأنها لها قوه تأكسدية عالية وبذلك يفقد الخل الناتج الطعم والرائحة المميزين له, كما يقوم بتكوين أغشيه لزجه سميكة وعندما ترسب تسد فتحات الجهاز مما يستلزم غسله بما في ذلك نشارة الخشب بواسطة حمض هيدروكلوريك (١عياري) أو كحول مخفف ثم غسله بالماء الساخن، يعاد بعد ذلك تلقيح الجهاز بخل سابق غير مبستر بدءا لتشغيله.

٢- دودة الخل

وهي تابعه للنيماتودا ويمكن رؤيتها بالعين المجردة، وتتكاثر بسرعة في المحلول وتظهر علي سطح السائل وجدر الأجهزة، ومصدر التلوث بها إما بالحشرات أو أحد مكونات المحلول الغذائي، وتتغذي الدودة علي حمض الخليك والبكتريا نفسها، ولذلك فهي تسبب خسارة كبيرة بالإضافة إلي تقليل قيمة الخل، ويمكن تجنبها بمنع التهوية في أوعية التعبئة وكذلك بإتباع شروط النظافة العامة، كما يمكن قتلها بالبسترة أو إزالتها بالترشيح.

٣- ذبابة الدروسوفيلا

تنمو علي الخل وتتغذي علي البكتريا كما قد تسبب وجودها مضايقات للعمال عند تواجدها بكميات كبيرة، كما أنها تعتبر المصدر الرئيسي في نقل دودة الخل بالمصنع، ويمكن تلافيها بعمل أسلاك علي شبابيك وأبواب المصنع.

إنتاج حمض الستريك Citric acid production

عرف حمض الستريك منذ نهاية القرن التاسع عشر بمادة النبات الطبيعية حيث مصدره ثمار الفاكهة مثل الموالح والكمثري والأناناس وبدأ العلماء منذ عام ١٨٩٣ م بإنتاج حمض الستريك باستخدام الفطريات ، وفي عام ١٩٢٣م بدأ أول إنتاج لحمض الستريك علي المستوي الصناعي باستخدام المزارع السطحية لفطر *Aspergillus niger* ، وبالرغم من أنه ما زالت هناك مصانع صغيرة في المكسيك وجنوب أمريكا تقوم باستخلاص حمض الستريك من ثمار الموالح حيث يحتوي الليمون من ٧- ٩٪ ستريك، إلا أن أكثر من ٩٩٪ من الإنتاج العالمي لحمض الستريك ينتج عن طريق التخمرات الميكروبية، ويستعمل حمض الستريك في عديد من الصناعات الغذائية مثل إنتاج المشروبات الغازية وعصائر الفاكهة ومركزاتها والجبن المطبوخ والحلويات والمثلجات القشدية والمربات والجيلي، بالإضافة إلي استخدامه كإحدى المواد الحافظة في كثير من الصناعات الغذائية، كما يدخل في صناعة الأدوية، حيث يستخدم في صناعة الأملاح الفوارة ، كما يستخدم في صورة سترات الحديد التي تدخل في صناعة العقاقير الطبية كمصدر للحديد، ويدخل أيضاً في صناعة الأقراص والمراهم الطبية والكريمات وبعض مستحضرات التجميل، وبجانب ذلك يستعمل نحو ٢٥٪ من الإنتاج الكلي من حمض الستريك في صناعة المواد المانعة للرغاوي التي تستعمل في التخمرات الصناعية، بالإضافة إلي ما سبق يدخل حمض الستريك في صناعة المرايا الفضية وأحبار الطباعة وصناعات التعدين بجانب استعماله في تحضير المنظفات الصناعية كبديل للبولي فوسفات التي تعتبر أحد المواد الملوثة للبيئة.

السلالات المنتجة لحمض الستريك Citric acid producer strains

يوجد العديد من سلالات الفطر والخمائر التى تقوم بإفراز كميات ضئيلة من حمض الستريك كمنتج من نواتج الأيض الغذائي الأولي منها *Aspergillus niger* *Asp.wentii,Saccharomycopsis lipolytica* بينما علي المستوي

التجاري تستخدم طفرات من *Asp.wentii, Aspergillus niger* , وبمقارنة هذه السلالات التابعة لجنس *Aspergillus* بمثيلاتها من جنس *Penicillium* ثبت كفاءة سلالات الجنس الأول بالنسبة لمعدل إنتاج حمض الستريك لكل وحده زمنية، بالإضافة إلي انخفاض تركيز الأحماض غير المرغوبة في المنتج النهائي مثل حمض الأكساليك والأيزوستريك والجلوكونيك.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Eurotiomycetes

Order:Eurotiales

Family:Trichocomaceae

Genus:*Aspergillus*

Species :*Asp.wentii, Aspergillus niger,*

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Saccharomycetes

Order:Saccharomycetales

Family:Saccharomycopsidaceae

Genus:*Saccharomycopsis*

Species:*Saccharomycopsis lipolytica*

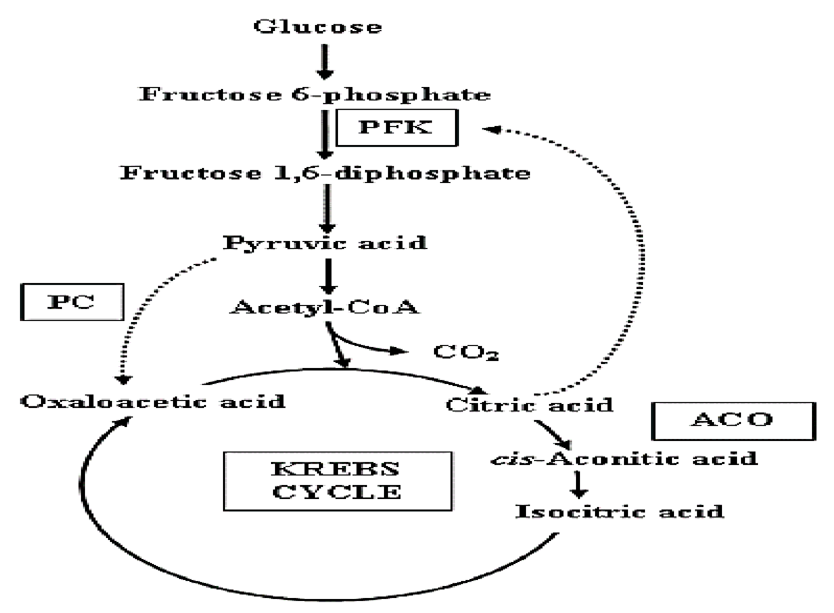
التخليق الحيوي لحمض الستريك Biosynthesis of citric acid

ينتج حمض الستريك في دوره الأحماض ثلاثية الكربوكسيل كناتج من عملية الأيض الغذائي الأولي ويتم تكسير ٨٠٪ من الجلوكوز الذي يعتبر مصدر الكربون الرئيسي المستخدم لإنتاج حمض الستريك بواسطة العديد من الميكروبات.

$$C_6H_{12}O_6 + 1,5\ O_2 \longrightarrow HO-\underset{\underset{CH_2-COOH}{|}}{\overset{\overset{CH_2-COOH}{|}}{C}}-COOH + 2\ H_2O$$

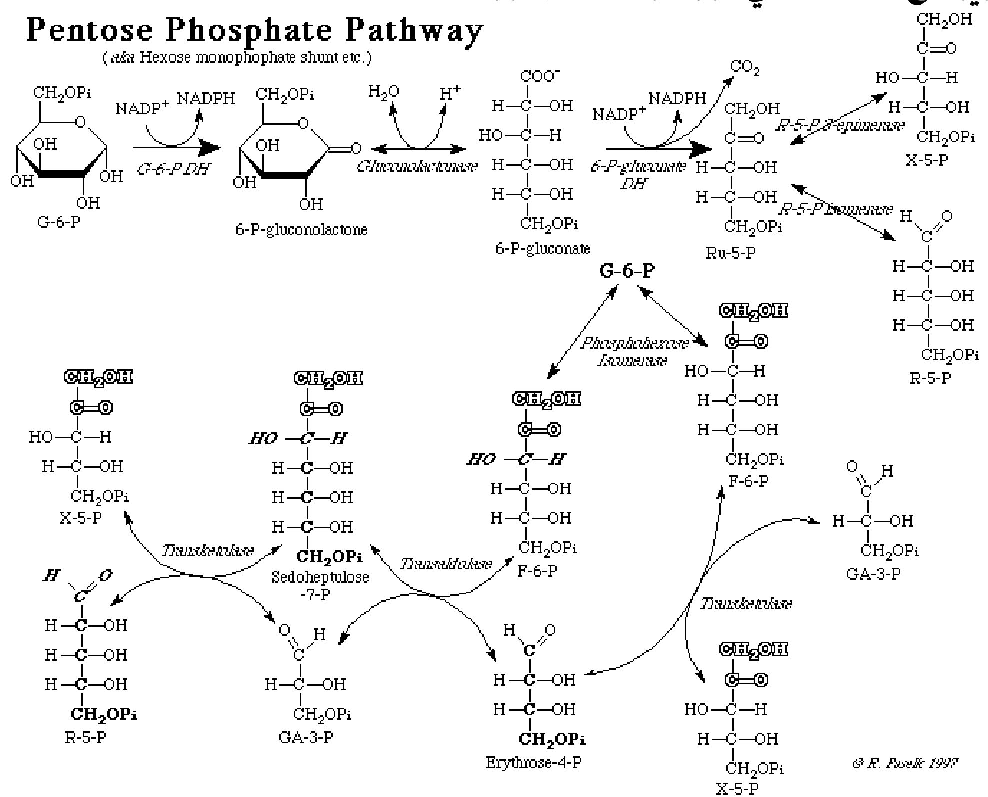
جلوكوز حمض ستريك

ويستخدم الجلوكوز في مرحلة الأيض الغذائي الأولي Primary metabolism حيث يتم تكسير ٨٠ ٪ من الجلوكوز الذي يعتبر مصدر الكربون الرئيسى المستخدم لإنتاج حمض الستريك لإنتاج كتلة حيوية من الهيفات الفطرية وينطلق CO_2 نتيجة عملية التنفس ، ويتم ذلك عن طريق تفاعلات مسار Empden Meyerhof– Parnas pathway (التحلل الجليكولي) حيث يتم إزالة مجموعة الكربوكسيل من حمض البيروفيك الذي يمثل الناتج النهائي لدورة التحلل الجليكولي لتكوين Acetyl–CoA الذي يتحد مع حمض Oxalacetate لتكوين حمض الستريك كما هو موضح بشكل (٩–٤) ، ثم تبدأ مرحلة الأيض الغذائي الثانوي والتي يتم تحول الجزء الباقي من الجلوكوز إلي أحماض عضوية بالإضافة إلي فقد جزء من هذا الكربون أثناء عملية التنفس، ونظرياً ينتج من كل ١٠٠جم سكروز ١٢٣جم ستريك مائي أو ١١٢ جم ستريك لا مائياً، بينما الناتج عملياً ينخفض بكثير عن ذلك نتيجة عمليات الفقد التي تحدث أثناء مرحلة الأيض الغذائي الأولي ، كما يمكن استخدام سكريات البنتوز كمصدر للكربون بغرض إنتاج حمض الستريك حيث يوجد العديد من الميكروبات التى لها القدرة على تمثيل الجلوكوز عبر دورة فوسفات البنتوز ، ولقد وجد أن بعض سلالات الفطر *Aspergillus niger* تستطيع استخدام السكريات الخماسية فى إنتاج حمض الستريك



شكل (٩-٤): التصور الحيوى المقترح لإنتاج حمض الستريك

ويوضح الشكل التالي دورة فوسفات البنتوز .



شكل (٩-٥): دورة فوسفات البنتوز

البيئات الغذائية Nutritional media

تتعدد مصادر المواد الكربوهيدراتية التي تستخدم في البيئات التخميرية المعدة لنمو الفطر اللازم لإنتاج حمض الستريك، فقد يستخدم النشا المستخرج من البطاطا أو النشا المحلل أو سترات الجلوكوز أو السكروز بدرجات النقاوة المختلفة أو عصير قصب السكر أو المولاس الناتج من البنجر أو قصب السكر، ففي حالة استخدام النشا في البيئة التخميرية يكتفي بإنزيمات الأميليز المفرزة بواسطة الفطر النامي, وفي حالة استخدام شراب السكر أو النشا المحلل يراعي التخلص من الكاتيونات إما بالترسيب أو بأعمدة التبادل الكاتيوني ويضاف إلي المولاس قبل عملية التعقيم للتخلص من المعادن الثقيلة التي تقلل من كفاءة الإنتاج، ويعتبر المولاس من أهم المواد الخام التي تستخدم في إنتاج حمض الستريك ، ومما هو جدير بالذكر أنه عند استخدام المولاس في عملية الإنتاج يجب مراعاة الأتى :

١- المولاس (مولاس القصب) فقير في محتواه من العناصر الغذائية مثل النيتروجين والفوسفور, لذلك يجب إضافة نترات الأمونيوم بمعدل ١جم/لتر وكذلك تضاف فوسفات البوتاسيوم الأحادية بنسبة ٠,٠١ -٠,٠٢ ٪ أى بمعدل ٠,٢ جم / لتر ولكن عند استخدام مولاس البنجر لا يضاف أى مصدر للنيتروجين .

٢- يحتوى المولاس علي كمية عالية من المعادن الثقيلة والذى يتم ترسيبها بإضافة سيانيد الحديد.

٣- يحتوى المولاس أيضا علي كمية عالية من الكالسيوم والذى يتم ترسيبه بإضافة أكسالات الأمونيوم .

٤- يجب إضافة كحول الميثانول بتركيز ٤٪ إلي المولاس والذى يعمل علي :

أ-إيقاف تأثير المعادن الثقيلة المثبط للفطريات المنتجة لحمض الستريك.

ب-إضافة الكحول يحد من تكوين حمض الأكساليك.

ج-إضافة الكحول يعطى أعلى إنتاج لحمض الستريك.

العناصر الصغرى Microelements

تؤثر العناصر الصغرى مثل النحاس، المنجنيز والحديد والزنك والموليبدنم علي كمية الستريك الناتجة حيث يحتاج إليها بتركيزات لا تتعدي الأجزاء في المليون وزيادة هذه العناصر الصغرى عن هذا الحد لها تأثير سيئ علي الإنتاج، ويلعب الحديد دورا مهما في هذه الصناعة، وتختلف الكمية اللازمة منه للحصول علي أمثل إنتاج باختلاف المادة الغذائية المستخدمة، فعلي سبيل المثال عند استخدام سكر السكروز في صورة نقية يكتفي بتركيز ٢ جزء في المليون حديد بينما عند استخدام النشا المحلل أو السكر المحول يكفي بتركيز ٠,٢ جزء في المليون وذلك نظرا لاحتواء المواد الخام علي شوائب من الحديد.

عملية الإنتاج Production procedure

يمكن إنتاج حمض الستريك باستخدام طريقة المزارع السطحية والتي تحتوي علي بيئات غذائية سائلة أو صلبة، وكذلك باستخدام طريقة المزارع المغمورة والتي تتم في أوعية تخميرية مهتزة أو عن طريق دفع الهواء داخل أوعية التخمير وتستخدم البيئات الصلبة علي نطاق ضيق حيث يصل الحد الأقصى للإنتاج سنوياً حوالي ٥٠٠٠ طن ستريك، بينما تستخدم الطرق الأخرى علي نطاق تجاري واسع ويتحكم في نوع الطريقة المستخدمة للإنتاج عدة عوائل منها رؤوس الأموال، أجور العمال، الطاقة المتاحة لعمليات التشغيل والتبريد، العمالة المدربة علي التحكم وتنظيم العمليات التخميرية.

إنتاج اللقاح Inoculum preparation

يستخدم معلق جراثيم الفطر كلقاح في حالة استخدام طريقة المزارع السطحية لإنتاج حمض الستريك، حيث يتم تجهيزها في أواني زجاجية تحتوي علي بيئة غذائية صلبة ويتم التحضين علي ٢٥°م لمدة ١٠- ١٤ يوماً.

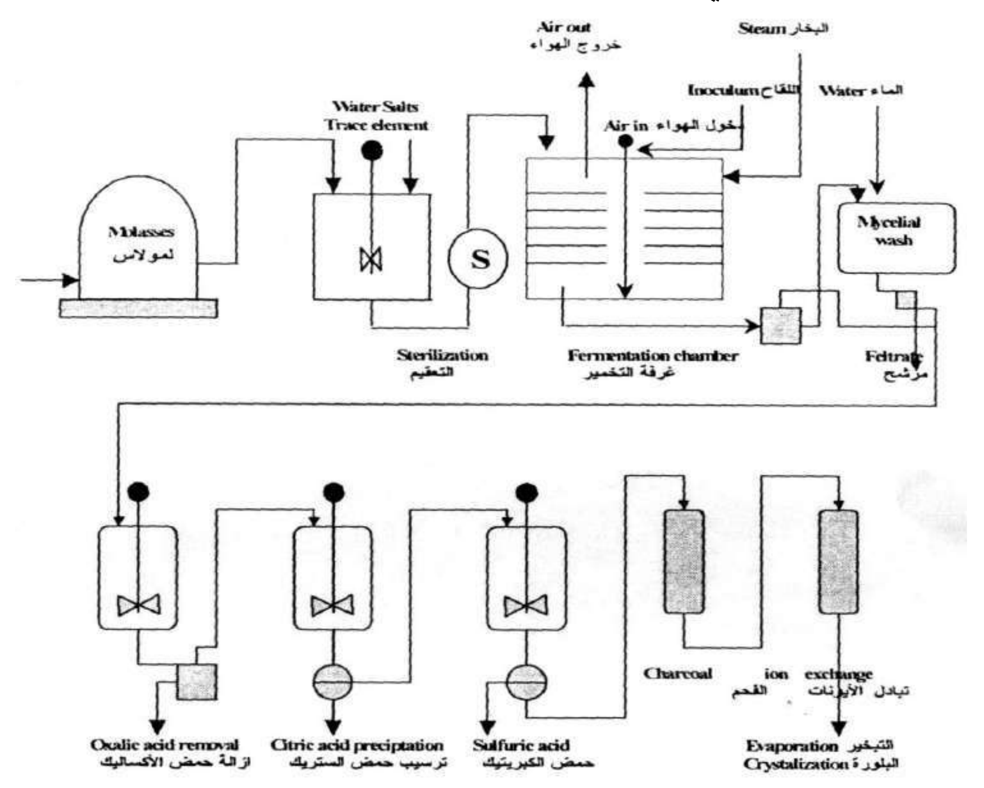
وفي حالة استخدام طريقة المزارع المغمورة لإنتاج حمض الستريك يتم إنبات الجراثيم في محلول غذائي يحتوي علي ١٥٪ سكر (المولاس) مع إضافة أيونات

السيانيد وتحضن لمدة ٢٤ساعه علي ٣٢°م، حيث يتم إنبات الجراثيم وتتحول إلي كريات الفطر (قطر ٠,٢- ٠,٥ مم) وتستخدم كلقاح في أوعية التخمير المغمورة.

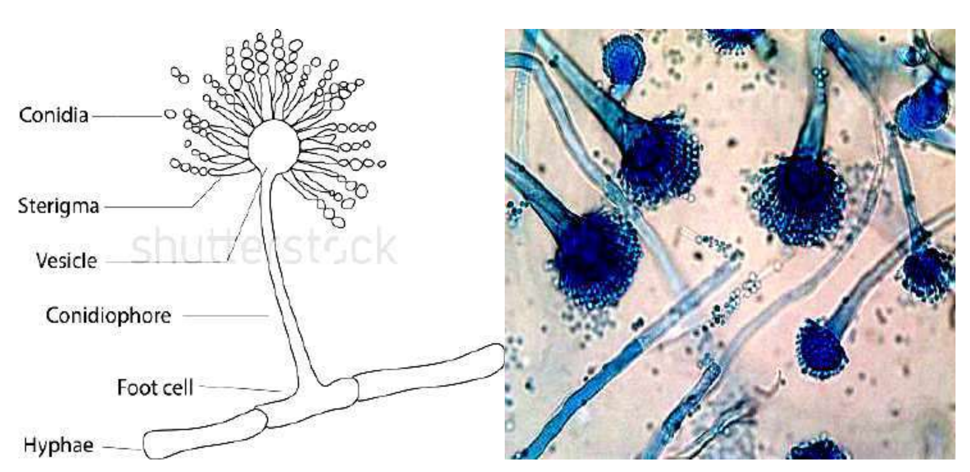
الطريقة السطحية لإنتاج حمض الستريك

Production of citric acid using surface method

تستخدم نخالة القمح أو لب نشا البطاطا كبيئة غذائية في حالة المزارع الصلبة، وسلالات فطر *Asp.niger* المستخدمة في هذه الطريقة لا تكون حساسة للعناصر النادرة كما في الطرق الأخري، يتم خفض درجة الـ pH في النخالة قبل عملية التعقيم بحيث تصل إلي pH ٤-٥، ثم تلقح بجراثيم الفطر في صواني ضحلة بعمق ٣-٥سم وتحضن علي ٢٨°م لمدة ٥- ٨ أيام وقد تحتاج هذه العملية إلي إضافة إنزيم ألفا أميليز، ويوضح شكل (٩-٦) رسم تخطيطي لخطوات إنتاج واستخلاص حمض الستريك.



شكل (٩-٦) :الطريقة السطحية لإنتاج حمض الستريك



شكل (٩-٧): فطر ***Aspergillus niger***

ويعتبر استخدام بيئة غذائية سائلة في التخمير بالطريقة السطحية من أقدم طرق الإنتاج حيث توضع البيئة الغذائية في صواني مصنوعة من الألومنيوم النقي بعمق ما بين ٥-٢٠سم وتحفظ هذه الصواني علي حوامل في حجرات معقمه, وتحتوي البيئة علي ١٦٠-٢٠٠جم سكروز (أو ٣٢٠-٤٠٠جم مولاس) ٠,٣-١جم فوسفات كالسيوم أحاديه، ٠,٢- ٠,٥ جم كبريتات ماغنسيوم، ٠,٠١جم كبريتات الزنك لكل لتر، يتم عقب عملية إضافة اللقاح دفع هواء معقم يمر علي النموات الفطرية ليوفر لها احتياجاتها من الأكسجين ويحفظ درجة الحرارة عند ٣٠°م,

ومن العوامل المؤثرة علي إنتاج حمض الستريك بطريقة التخمر السطحي، مساحة سطح الصواني المستخدمة في الإنتاج بالنسبة إلي حجم البيئة المستخدمة في تنمية الفطر، فكلما زادت هذه النسبة زاد معدل تحول السكر إلي حمض ستريك بفعل الإنزيمات الداخلية في هيفات الفطر، وعندما تطفو علي سطح السائل طبقة رقيقه من النموات الفطرية يبدأ انخفاض رقم الـ pH الي ١,٥- ٢ نظرا لامتصاص هيفات الفطر لأيونات الأمونيا في البيئة الغذائية، تلعب التهوية دورا مهما في عملية الإنتاج حيث ينخفض معدل إنتاج الستريك إذا ارتفعت نسبة CO_2 في الوسط المحيط أكثر من ١٠٪.

إنتاج حمض الستريك بالطريقة المغمورة

Production of citric acid using submerged method

يتم إنتاج ٨٠٪ من الإنتاج العالمي لحمض الستريك باستخدام هذه الطريقة، ولكن يعاب علي هذه الطريقة احتياجها لتكنولوجيا متقدمة للتحكم في الإنتاج وبالتالي إلي أفراد ذات خبره وكفاءة عالية، تستخدم في هذه الطريقة أوعيه مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ المقاوم للتأكل بفعل حمض الستريك المفرز بواسطة هيفات الفطر حيث تؤدي المعادن الثقيلة التي تنفرد من جدر الأوعية التخميرية عند وصول درجة الـ pH الي١-٢ إلي تثبيط تكوين حمض الستريك، ويصل معدل التهوية في الأوعية المتخمرة إلي ٠,٢- ١حجم هواء/حجم بيئة/ دقيقة وذلك أثناء مرحلة إنتاج الحمض، وللتغلب علي الرغاوي التي تتكون أثناء التخمير والتي قد يصل حجمها إلي ثلث حجم الوعاء يضاف زيت الطعام بمعدل ١سم/لتر.

إنتاج حمض الستريك باستخدام الخميرة *Candida lipolytica*

تستطيع الخميرة *Candida lipolytica* إنتاج حمض الستريك باستخدام مركبات الهيدروكربون بطريقة التخمر ذو الدفعة الواحدة أو التخمر نصف المستمر ، وبمقارنة الناتج التخميرى فى حالة استخدام الكربوهيدرات ومركبات الهيدروكربون نجد أن حمض الستريك ينتج بكمية أكبر فى حالة استخدام مركبات الهيدروكربون ، ولكن يعاب عليها انخفاض درجة ذوبان الهيدروكربون وارتفاع نسبة حمض الأيزوستريك فى المنتج النهائي والتى قد تصل إلى ٥٠ ٪ من الناتج التخميرى ، وفى نهاية مرحلة التخمير يرشح المحلول الغذائي لاستبعاد الكتلة الحيوية لفطر الخميرة بعد ضغطها جيدا للحصول على ما بداخلها من الحمض ، ثم يضاف هيدروكسيد الكالسيوم لمعادلة حموضة الراشح وبالتالى يتم الحصول على سترات الكالسيوم وأكسالات الكالسيوم عند pH ٧,٢ وعلى درجة حرارة ٧٠- ٩٠ °م ، بعد ذلك تغسل سترات الكلسيوم وتنقل لخزان التحميض حيث يضاف حمض كبريتيك إلى سترات الكالسيوم ويتم ترشيح المحلول بعد ذلك للتخلص من كبريتات الكالسيوم المترسبة

ويمرر محلول حمض الستريك على كربون نشط لإزالة اللون ثم يتم تركيزه عن طريق التبخير ويتم بلورته على ٣٦,٥ °م للحصول على الستريك المائي أو على ٤٠ °م للحصول على بلورات الستريك اللامائية.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Saccharomycetes

Order:Saccharomycetales

Family:Saccharomycetaceae

Genus:*Candida* **Species:*Candida lipolytica***

العوامل المؤثرة علي إنتاج حمض الستريك

Factors affecting citric acid production

١- السلالة المستخدمة: يجب أن تستخدم السلالة ذات الكفاءة العالية في الإنتاج مثل ***Aspergillus niger, Candida lipolytica***.

٢- درجة الحموضة: تتراوح درجة الحموضة الملائمة لإنتاج حمض الستريك من ٢الي ٣ وعندما ترتفع درجة الحموضة إلي ٤-٥ ينخفض معدل إنتاج حمض الستريك.

٣- درجة الحرارة: تتراوح درجة الحرارة المثلي لإنتاج حمض الستريك ما بين ٢٥-٣٥°م وإذا ارتفعت درجة الحرارة عن ذلك زاد إنتاج حمض الأكساليك بدلا من حمض الستريك.

٤- مصدري الكربون والنيتروجين والنسبة بينهما: يعتبر كل من السكروز والمالتوز من أفضل مصادر الكربون لإنتاج حمض الستريك، ويتراوح أنسب تركيز من السكر ما بين ١٠الي ٢٠٪ حسب السلالة المستخدمة في الإنتاج، ومن أفضل مصادر النيتروجين هي أملاح النترات والببتون (يضاف النتروجين بنسبه تتراوح

ما بين ٠,٠٨-٠,٠٩٪) وتعتبر نسبة الكربون إلي النيتروجين التي تتراوح ما بين ١:٨ إلي ١:١٢ مناسبة للنمو وإنتاج كتله حيوية وغير مناسبة لإنتاج حمض الستريك نظرا لأن كل الكربون الموجود في البيئة الغذائية سيستخدم في إنتاج الطاقة وبناء الكتلة الحيوية وعدم توفر الكربون اللازم لتراكم حمض الستريك، أما إذا زادت النسبة عن ذلك فإن الخلايا تحول الكربون الزائد عن حاجتها لتخليق حمض الستريك ومن ثم يزداد تراكمه في البيئة الغذائية(نسبة الكربون : النيتروجين المثلي لإنتاج حمض الستريك تتراوح ما بين ١:٧٠الي ١:٨٩).

٥- الأملاح المعدنية: وجد أن نقص بعض العناصر المعدنية يؤدي إلي رفع معدل إنتاج حمض الستريك مثل (Mg^{2+}، Mn^{2+}).

إنتاج حمض اللاكتيك Production of lactic acid

يمكن استخدام المولاس في إنتاج حمض اللاكتيك ولكن يستخدم الشرش بصفة أساسية الذى ينتج من مصانع الألبان في إنتاج حمض اللاكتيك ، والشرش يحتوى علي سكر اللاكتوز بنسبة ٥٪ ، بروتين ، فيتامين ، وأملاح معدنية.

استخدامات حمض اللاكتيك

يستخدم حمض اللاكتيك فى الصناعات الغذائية حيث يدخل فى الحلويات والمخللات وإنضاج اللحوم كمادة حافظة ، كذلك يستخدم في صناعة الورنيش والأحبار واللدائن والمنسوجات ، كما تستعمل مشتقاته في الأغراض الطبية مثل لاكتات الكالسيوم لعلاج نقص الكالسيوم ولاكتات الحديد لعلاج الأنيميا ، كذلك تستخدم لاكتات الكالسيوم فى صناعة مسحوق الخبيز Baking powder .

البكتريا المنتجة لحمض اللاكتيك

تنتج العديد من البكتريا حمض اللاكتيك من تخمير السكريات فى ظروف لاهوائية وهذه البكتريا تتبع عائلتين هما Lacetobacillaceae , Streptococcaceae ، وتستخدم الأنواع البكتيرية التى تتبع هذه العائلات فى كثير من الصناعات

التخميرية مثل التخمرات اللبنية وصناعة الجبن والخبز الحمضى Sour bread والمخللات Pickles ، وتنقسم هذه البكتريا إلى مجموعتين تبعا للمنتج النهائي للتخمر وهما :

١- البكتريا متجانسة التخمر

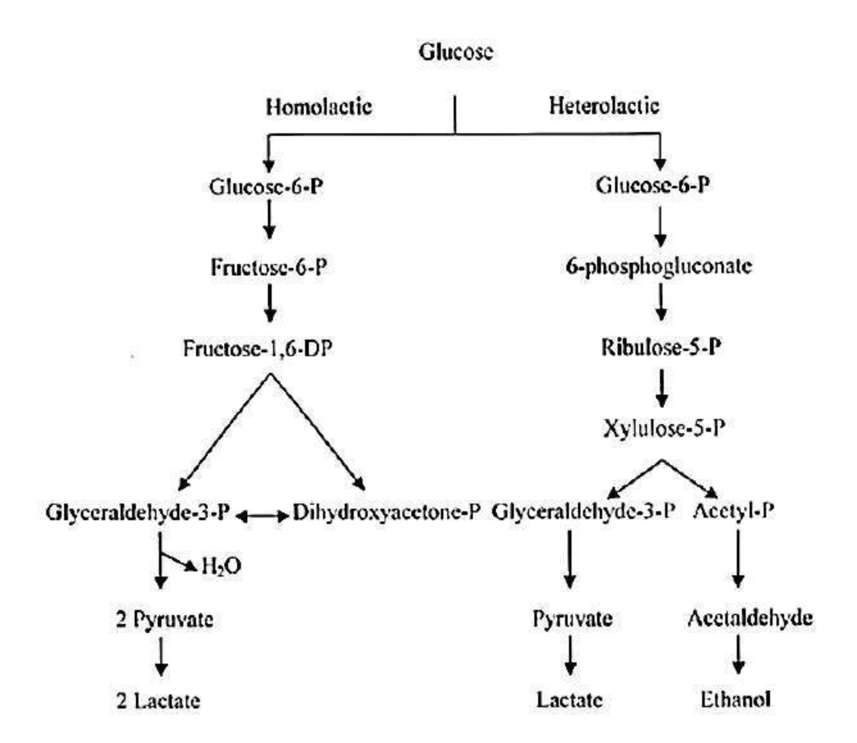
يتميز هذا النوع من البكتريا أنه يخمر السكريات مكوناً نسبة عالية من حمض اللاكتيك تصل إلى أكثر من ٨٥ ٪ ومن أهم أنواع البكتريا التابعة لهذه المجموعة *Lactobacillus delbrueckii , L.lactis , L.bulgaricus , L.casei , L.plantarum*, وتتميز هذه المجموعة من الميكروبات بأنها تكون خلايا عصوية مستقيمة أو منحنية توجد مفردة أو فى سلاسل غير متجرثمة موجبة لصبغة جرام ، وأيضاً *Lactococcus lactis , Lactococcus cremoris* وهما يكونان خلايا كروية فى أزواج أو سلاسل غير متجرثمة موجبة لصبغة جرام، وميكروب *Pediococcus cerevisiae* وهو يكون خلايا كروية فى أزواج أو تجمع رباعي غير متجرثمة وموجبة لصبغة جرام وبكتريا *Sporolactobacillus inulinus* وهي بكتريا عصوية متجرثمة موجبة لصبغة جرام كما أمكن عزل سلالة تتبع جنس *Bacillus* ولها القدرة على إنتاج حمض اللاكتيك D(−) Lactic acid مثل *B.dextrolactis* .

٢- البكتريا غير متجانسة التخمر

تتميز هذه المجموعة بأنها تنتج حوالي ٥٠ ٪ حمض اللاكتيك من تخمر سكر الجلوكوز مع كميات كبيرة من حمض الخليك الإيثانول وثاني أكسيد الكربون ومن أهم الميكروبات التابعة لهذه المجموعة :

Lactobacillus fermentum وهو ميكروب عصوى غير متجرثم موجب لجرام ينمو عند ٤٥ °م ولا ينمو عند ١٥ °م ، وميكروب *Lactobacillus brevis* وهو ميكروب عصوى غير متجرثم موجب لجرام ، ينمو عند ١٥ °م ولا ينمو عند ٤٥ °م ، وتكون السلالات التابعة لهذين الميكروبين , *Leuconostoc mesentroides*

Leuconostoc dextranicum خلايا كروية الشكل توجد فى أزواج او في سلاسل موجبة لجرام غير متجرثمة ، تفرز الخلايا مواد لزجه من عديد التسكر يسمي الدكستران أثناء نموها على بيئة غذائية تحتوى على السكروز (تستخدم تجارياً فى إنتاج الدكستران الطبي والدكستران الذي يستخدم فى الصناعات الأخري) ، وتسبب بعض المتاعب أثناء صناعة السكر من عصير القصب أو البنجر حيث تنمو مكونة كتلا لزجة من الدكستران التي تعوق سريان العصير خلال الأنابيب.



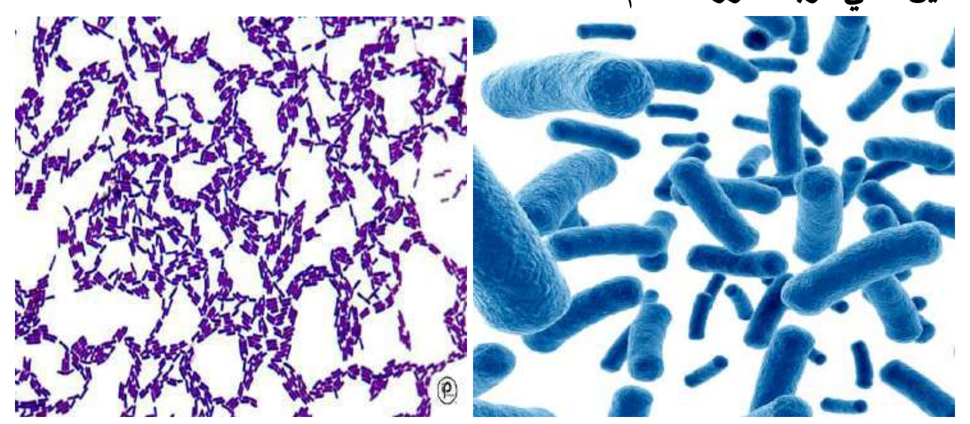
شكل (٩-٨): مقارنة بين بكتريا حمض اللاكتيك متجانسة ومختلطة التخمير

وتوجد بعض البكتريا الأخرى التى تنتج أثناء نموها كميات عالية من حمض اللاكتيك مثل ميكروب ***Bifidobacterium*** وهو يتبع مجموعة الأكتينوميستس عائلة **Actinomycetaceae** وهو ميكروب يكون خلايا عصوية متعددة الإشكال متفرعة من أحد الأطراف أو من كلا الطرفين تفرعاً يشبه شوكة الطعام **(Bifid)** لاهوائي اختياري موجب لصبغة جرام وهو ينتج حمض اللاكتيك والخليك ، وتوجد

معظم أنواعه فى أمعاء الإنسان والحيوان وتحتوى أمعاء الأطفال الرضع على النوع *bifidum Bifidobacterium* ، كما ينتج ميكروب *Serratia* وفطر *Rhizopus* حمض اللاكتيك أثناء نموهما علي بيئة تحتوى على سكر الجلوكوز، وفيما يلى شرح مختصر لمراحل إنتاج حمض اللاكتيك بيولوجياً :

١-تجهيز البادئ

يتم تجهيز البادئ بتلقيح بيئة اللبن الفرز (١٠٠ مل) بميكروب *Lactobacillus delbrueckii* ss.*bulgaricus* شكل(٩-٩) يفضل إضافة مستخلص الخميرة والذى يساعد علي سرعة إحداث التخمر ، بعد ذلك يتم التحضين علي درجة حرارة ٤٣°م لمدة ٢٤ ساعة.



شكل (٩-٩): الشكل المورفولوجي لبكتريا حمض اللاكتيك

٢- وعاء التخمير

تتم عملية التخمير في وعاء (مخمر) وهذا المخمر ذو حجم كبير بحيث يوضع به ٥٠٠ لتر من الشرش ، ويوجد في قاع المخمر أنبوبة من النحاس مثقبة يمر خلالها بخار لتسخين البيئة إلي درجة الحرارة المطلوبة للتخمير ، ويزود المخمر بمقلب ميكانيكى ويوجد بالمخمر أنبوبة قطرها ٤ بوصة والتى يتم رفعها أو خفضها لسحب محلول لاكتات الكالسيوم الرائق.

٣- عمليــة التخمــير

تــتم عمليــة التخميــر للشــرش الملقــح بميكــروب *Lactobacillus delbrueckii* ss. *bulgaricus* علي درجة حرارة ٤٣°م لمدة ٤٨ ساعة، ويضاف أثناء التخمر الجير في صورة معلق إلي البيئة وذلك كل ٦ ساعات ليتم المحافظة علي الحموضة عند ٠,٦٪.

٤- ترشيح السائل المتخـمر

يتم تسخين البيئة المتخمرة علي درجة حرارة ٩٦°م لتجميع بروتينات الشرش ، بعدها يسحب السائل الرائق بواسطة أنبوبة وبقوة بواسطة طلمبة طرد مركزى ويمرر علي مرشح ثم يخزن في وعاء ويعالج بواسطة الجير لترسيب الحمض على صورة لاكتات كالسيوم وضبط الحموضة ثم يتم إزالة اللون باستخدام فحم نشط ، بعد ذلك تجرى عملية رج للمخلوط ثم يترك ١٥ دقيقة ثم يسحب الرائق ويضخ خلال مرشح ثم يتم تجميع السائل الرائق.

٥- التبخير والبلورة والغسيل

يتم تركيز السائل النقى بالتبخير , وبعد ذلك يضخ إلي أوعية البلورة والتي تتكون من جدار خارجى وجدار داخلى بينهما مواسير للتبريد حيث يتم بلورة لاكتات الكالسيوم بعد ١٢ ساعة علي درجة حرارة ١٢- ١٥°م ، ثم يتم غسيل لاكتات الكالسيوم المتبلورة بالماء ثم يجرى لها عملية طرد مركزى وتغسل مرة أخرى ثم يبخر ماء الغسيل ، بعد ذلك تنقل البللورات إلي تنك مبطن بالزجاج وتذاب في مقدار قليل من الماء علي درجة ٦٦°م ، بعد ذلك ينقل الرائق إلي مكبس الترشيح ثم إلي أحواض البلورة، وفي النهاية يتم تقسيم بللورات حمض اللاكتيك إلي ثلاث درجات علي حسب نقاوتها:

أ-حمض اللاكتيك التجارى.

ب-حمض اللاكتيك المستخدم في التغذية.

ج-حمض اللاكتيك المستخدم في صناعة الأدوية.

ميكـانيكية التخمـــــر Fermentation mechanism

تقـوم بكتريـا حمـض اللاكتيـك التــي تتبــع أجنــاس ***Lactobacillus, Lactococcus & Leuconostoc*** بتحليل سكر اللاكتوز بفعل إنزيم اللاكتيز إلـي جلوكوز وجالاكتوز ، ثم تدخل هذه السكريات في دورات تمثيل غذائي من أهمها دورة التحلل الجليكولى **Glycolysis** وتتحـول إلـي حمـض البيروفيك الذى يتحـول بـدوره إلي حمض لاكتيك والمعادلات التالية توضح ذلك:

$$\underset{\text{Lactose}}{C_{12}H_{22}O_{11}} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{Glucosee}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Galactose}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow \text{Glycolysis}$$

$$\underset{\text{Pyruvic}}{CH_3-CO-COOH} \xrightarrow[\text{NADH, H +}]{\text{Dehydrogenase}} \underset{\text{Lactic acid}}{CH_3-CHOH-COOH}$$

وقد يكـون هذا التخمير مختلط **Heterofermentative** مثـل بعض الأنـواع التابعـة لجنس ***Lactobacillus*** مثـل ***L.brevis , L. fermentii*** وفـي هذه الحالـة تنـتج البكتريـا مـن تخمـر سكر اللاكتـوز بعض أحمـاض أخـرى مثـل الخليـك وكحـولات مثـل الإيثـانول بجانـب حمـض اللاكتيـك ، أو قـد يكـون التخمـر متجـانس **Homofermentative** مثل كل الأنـواع التابعـة لجنس ***Lactococcus*** والتـي تخمر سكر اللاكتوز وتنتج حمض لاكتيك فقط .

الشروط الواجب مراعاتها عند إنتاج حمض اللاكتيك

١- عند إنتـاج حمض اللاكتيك يجب استخدام البكتريا ذات التخمر المتجانس حتـى يمكن إنتاج اكبر كمية من الحمض حيث تصل كمية الحمض التـى تنـتج بواسطة هذا النوع من البكتريا إلى ٩٥ ٪ من السكر المضـاف وعادة يتكون أقل من ٢ مول من حمض اللاكتيك من تخمير ١ مـول سكر ويرجـع ذلـك إلـى تكوين بعض الأحماض العضوية الأخرى أثناء التخمير.

٢- يجـب اسـتخدام مـواد خـام مناسـبة لنمـو بكتريـا حمـض اللاكتيـك مثـل الشـرش والمولاس ومخلفات صناعة الورق.

٣- يجب أن يتراوح تركيز السكر فى بيئة التخمير من ٥ -٢٠ ٪ ويتوقف ذلك على نوع البكتريا المستخدمة وطريقة التخمر المستخدمة فى الإنتاج .

٤- يجب أن يتوفر في بيئة التخمير مصدر نيتروجينى وأملاح معدنية وفيتامينات ، وقد وجد أن مستخلص الشعير ومنقوع الذرة لهما تأثير مشجع على زيادة تكوين حمض اللاكتيك.

٥- يفضل استخدام التخمير شبة المستمر فى إنتاج حمض اللاكتيك لمنع تأثير نواتج التمثيل الغذائي على نشاط البكتريا المنتجة لحمض اللاكتيك.

٦- يجب خفض معدل التهوية للدرجة المناسبة لإعطاء أعلى إنتاجية مناسبة من حمض اللاكتيك لان هذه البكتريا محبة للأكسجين بدرجة كبيرة .

٧- يجب ضبط الأس الهيدروجينى للبيئة بما يتناسب مع نمو البكتريا لأن ذلك يزيد من إنتاج حمض اللاكتيك علاوة على انه يقلل من فرص التلوث بميكروبات أخرى .

٨- يجب إضافة كربونات الكالسيوم إلى محلول التخمير لمعادلة حمض اللاكتيك الناتج وترسيبه فى صورة لاكتات كالسيوم وبذلك يستمر معدل إنتاج الحمض عالى دون أن تتأثر البكتريا المنتجة بحمض اللاكتيك المتكون .

إنتاج حمض الجلوكونيك Production of gluconic acid

يعتبر حمض الجلوكونيك شائع الاستخدام في النواحى الطبية كمادة منخفضة الطاقة Diet supplement في صورة أملاح كالسيوم أو بوتاسيوم أو زنك ، وأيضا تعتبر مادة جلوكونات الكالسيوم من أهم مصادر الكالسيوم في غذاء الأطفال والسيدات الحوامل ، ويستعمل في إعداد بدائل الألبان في الأبقار ، كما يستخدم هذا الحمض بكثرة في تجهيز المنظفات الصناعية ، وينتج هذا الحمض بصورة أساسية باستعمال بعض سلالات الفطر *A.niger* خلال مراحل تخمر البيئة السائلة بالطريقة المغمورة ومن الفطريات الأخرى التي لها القدرة على إنتاج حمض الجلوكونيك الفطر *Penicillium chrysogenum* والفطر *P.purpurogenum* وبعض سلالات الفطر *Pullularia pullulans* وذلك باستخدام الجلوكوز كمصدر كربونى ، ويتم

تكوين حمـض الجلوكونيك عن طريـق أكسدة الجلوكـوز بواسطة إنزيم Glucose oxidase خلال مرحلة التخمر بطريقة مباشرة ولكن يجب أن يكون رقم حموضة البيئة ٦.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Dothideomycetes

Order:Dothideales

Family:Aureobasidiaceae

Genus: ***Pullularia***

Species:*Pullularia pullulans*



شكل (٩-١٠): فطر*Pullularia pullulans*

طــرق الإنتاج

يوجد العديد من الطرق المستخدمة في الإنتـاج الصناعى لهذا الحمض ، منها طريقة التخمر السطحى في الصوانى ، وطريقة التخمير العميق ، وطريقة الاسطوانات الدوارة، ويمكن إنتاج حمض الجلوكونيك بطريقة الخلايا الساكنة أو الإنزيمات الساكنة ، حيث تصل الإنتاجية إلي نحو ٩٣٪ في وجود الأكسجين النقى ، وفـي هذه التقنيـة

يتم تسكين ميسيليوم الفطر *A.niger* أو إنزيمات جلوكوز أكسيديز Glucose oxidase والكتاليز Catalase علي دعامات من الكربون النشط أو من سبيكة مكونة من النيكل والسيليكا والألومينا أو من الخزف ، ويتم حجز هيفات الفطر أو الإنزيمات في مادة هلامية من البولى أكريلاميد أو من مادة 2- hydroxyethyl methacrylate.

ويتم تجهيز لقاح الفطر المستخدم كما في حالة إنتاج حمض الستريك ، وذلك باستخدام سلالات من الفطر *A.niger* أو من الفطر *P.chrysogenum* ويتم الإنتاج التجارى لحمض الجلوكونيك باستخدام طريقة التخمر السطحى أو العميق ، إلا أن طريقة التخمر العميق ينتج عنها كمية كبيرة من الحمض في فترة قصيرة ، ويتم إنتاج حمض الجلوكونيك في صورتين هما جلوكونات الكالسيوم وجلوكونات الصوديوم .

أ) إنتاج جلوكونات الكالسيوم

تنتج جلوكونات الكالسيوم باستعمال طريقة التخمر العميق ، ثم تتم عملية تعادل الحمض الناتج عن طريق ملح كربونات الكالسيوم ، ويزداد معدل التخمير بارتفاع معدل التهوية ، مع تقليب البيئة التي ينمو عليها الفطر في خزان التخمير ،ويجب ألا تحتوى بيئة النمو علي أكثر من ١٣-١٥٪ جلوكوز ، لأن زيادة تركيز الجلوكوز في البيئة عن ذلك يؤدي إلي زيادة تكوين جلوكونات الكالسيوم مما يؤدي إلي بلورتها في البيئة وصعوبة فصلها وتنقيتها بعد ذلك .

ب) إنتاج جلوكونات الصوديوم

تستخدم جلوكونات الصوديوم في كثير من النواحى الغذائية والعلاجية أكثر من جلوكونات الكالسيوم حيث تتميز بمعدل ذوبانها العالى، ولإنتاج جلوكونات الصوديوم تجاريا تستخدم عادة بيئة مكونة من جلوكوز تجارى ، مخلفات صناعة النشا من الذرة ، يوريا ، فوسفات ماغنسيوم ، فوسفات بوتاسيوم ، فوسفات أمونيوم لكل لتر بيئة.

ويتم ضبط رقم الحموضة بعد تعقيم البيئة ، حيث يجب أن يكون عند ٦,٥ ، ثم يضاف اللقاح الفطرى (البادئ) , ويجب المحافظة علي رقم حموضة البيئة خلال مرحلة نمو الفطر ، يتم التحضين عند حرارة ٣٣- ٣٤°م .

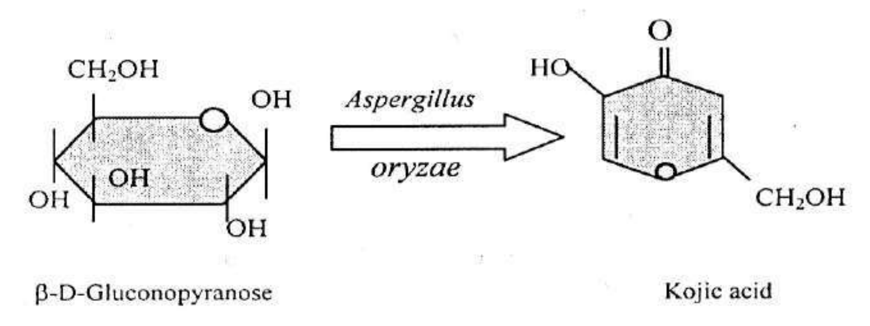
استخدامات حمض الجلوكونيك ومشتقاته

تستخدم جلوكونات الكالسيوم وجلوكونات الحديدوز في تصنيع الأدوية المستخدم لعلاج نقص الكالسيوم والحديد .

- يستخدم جلوكونو- دلتا- لاكتون في صناعة مساحيق الخبز.
- يستخدم حمض الجلوكونيك في مصانع الألبان كمنظف ، ليمنع تكوين أحجار الألبان Milk stones ، كما يدخل في صناعة مركبات تنظيف مصانع الأغذية في وجود الصودا الكاوية ، نظرا لعدم تسببه في تأكل الأوعية المصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ وأيضاً الأوعية والوصلات المصنوعة من النحاس أو الألومونيوم .
- يستخدم حمض الجلوكونيك في صناعة أحبار الطباعة ودباغة الجلود ، وصناعة أفلام التصوير الحساسة للضوء.
- تستخدم جلوكونات الصوديوم في مخاليط صناعة الأسمنت.
- يستخدم حمض الجلوكونيك في إزالة صدأ الحديد القلوى .
- تستخدم جلوكونو- دلتا- لاكتون كمادة لخفض رقم الـ pH فى كثير من عمليات التصنيع الغذائي وخاصة صناعة الجبن ,

إنتاج حمض الكوجيك　　Production of kojic acid

حمض الكوجيك له استخدامات على المستوى التجارى حيث يستخدم فى صناعة البلاستيك والورق كمادة محسنة للنكهة فى بعض الأغذية، وينتج هذا الحمض منذ زمن طويل عن طريق التخمر المباشر للجلوكوز حيث يتم الحصول على ٧٠-٩٠٪ من المنتج بواسطة *Aspergillus flavus, Aspergillus oryzae* والمعادلة التالية توضح كيفية إنتاج حمض الكوجيك:



شكل (٩-١١):إنتاج حمض الكوجيك

كما يمكن إنتاج حمض الكوجيك من البيروفات أو الجليسرول أو الأسيتات أو الإيثانول وتتشابه ظروف إنتاج الحمض مع ظروف إنتاج حمض الستريك، كما يمكن لبعض السلالات تحويل حمض الستريك أو الإيتاكونيك **Itaconic**إلى حمض كوجيك وجدير بالذكر أن هذا الحمض يتميز باللون الأحمر.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Eurotiomycetes

Order:Eurotiales Family:Trichocomaceae

Genus:*Aspergillus*

Species

Aspergillus flavus ***Aspergillus oryzae***

Aspergillus itaconicus ***Aspergillus terreus***

Production of itaconic acid إنتاج حمض الإيتاكونيك

تم اكتشاف حمض الإيتاكونيك أول مرة عام ١٩٣١م حيث وجد كمنتج أيضى فى مزرعة لفطر ***Aspergillus itaconicus*** وبعد ذلك تم اكتشاف بعض السلالات التابعة لفطر ***Aspergillus terreus*** والتى لها القدرة على إفراز حمض الإيتاكونيك بكفاءة أكبر من الفطر الأول، وحالياً تستخدم طفرات من السلالتين السابقتين لإنتاج الحمض على المستوى التجارى.

وتعتبر المصانع المنتجة لهذا الحمض قليلة على مستوى العالم, حيث يوجد مصنعان فى غرب أوروبا ، ومصنع واحد فى كل من أمريكا وروسيا واليابان، يستخدم حمض الإيتاكونيك أساسا فى صناعة البلاستيك كما يدخل فى صناعة ورق الحائط والمواد اللاصقة، وبالتالى يمكن استخدامه فى صناعة السجاد والألياف الصناعية والراتنجات الصناعية وتجهيز أحبار الطباعة.

التخليق الحيوى Biosynthesis

يتم تخليق حمض إيتاكونيك من خلال دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل وذلك عن طريق نزع مجموعة الكربوكسيل لحمض Cis–aconotic والمعادلات التالية توضح التخليق الحيوى لحمض إيتاكونيك من خلال دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل :

$$\begin{array}{ccccc} HO-CH-COOH & \xrightarrow{I} & CH-COOH & \xrightarrow{II} & CH_2-COOH \\ CH-COOH & & C-COOH & & C-COOH + CO_2 \\ CH_2-COOH & H_2O & CH_2-COOH & & CH_2 \end{array}$$

D–Isocitric acid cis–Aconitic acid Itaconic acid

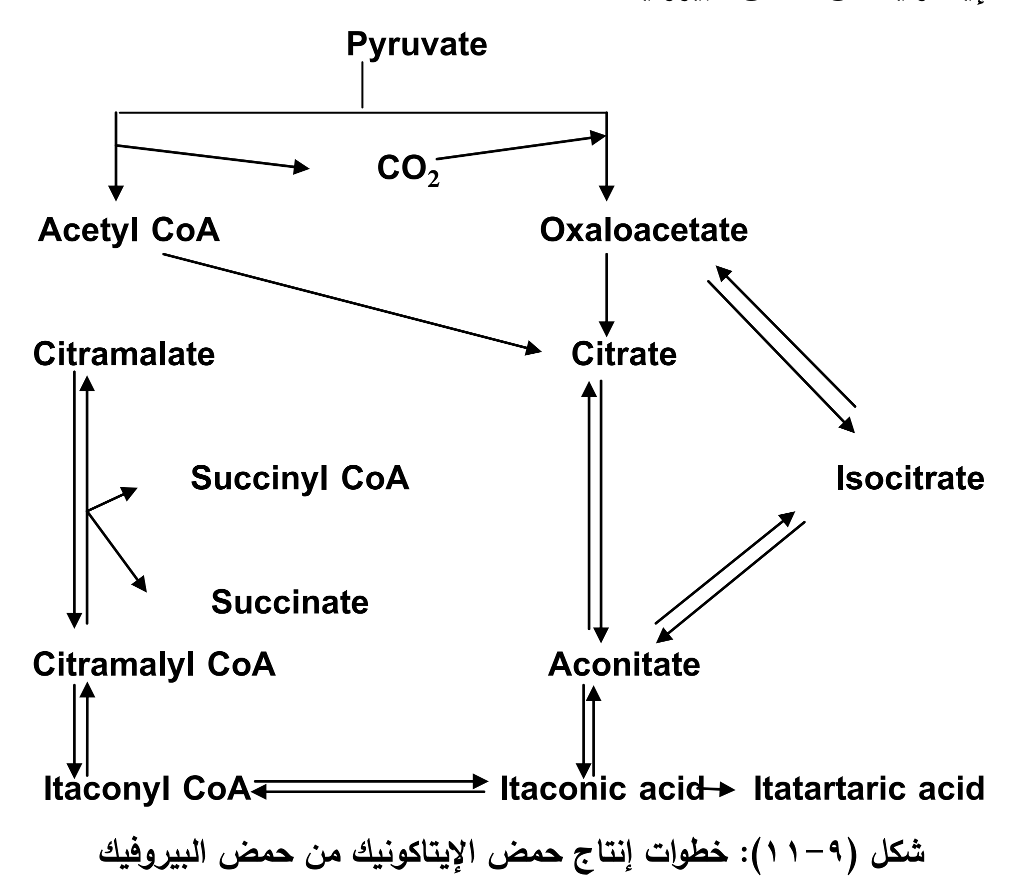
I Aconitic acid hydrolases II Aconitic acid decarboxylase

وهناك مسار أخر لتخليق حمض الإيتاكونيك حيوياً من حمض البيروفيك عبر Citramalic acid, Citraconic acid and Itatartaric acid ويعتبر حمض السكسينيك وحمض إيتاطرطريك Itatartaric acid من النواتج الثانوية غير المرغوبة، ولذلك تضاف أملاح الكالسيوم إلى بيئة نمو الفطر وذلك لتثبيط فعل إنزيم Itaconic oxidase الذى يعمل على تكوين حمض إيتاطرطريك وبالتالى يؤدى إلى زيادة المحصول من الحمض المنتج .

إنتاج حمض الإيتاكونيك على النطاق التجارى

يتم إنتاج حمض الإيتاكونيك على المستوى التجارى باستخدام طريقة المزارع المغمورة وذلك باستخدام أوعية مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ ويستعمل المولاس وأملاح الأمونيوم أو نقيع الذرة كمصدر للكربون والنتروجين،

ويتراوح رقم الحموضة ما بين ٥-٧ وذلك باستخدام فطر *Asp. terreus* ، ورقم الحموضة الأمثل لإنتاج الحمض إلى ٣-٤ ويصل أقصى نشاط للفطر عند رقم pH 2، ويلاحظ أن يكون تركيز السكر فى بداية عملية التخمير ١٠٠-١٨٠ جرام لكل لتر بيئة، وفترة انتهاء التخمير تستغرق حوالى ٧٢ ساعة مع مراعاة التهوية المناسبة ، كما أمكن إنتاج حمض الإيتاكونيك باستخدام طريقة المزارع المستمرة حيث يستمر التخمير لمدة أسبوعين، وقد أظهرت النتائج تفوق هذه الطريقة حيث تمثل التكاليف الكلية حوالى ٨٠٪ من تكاليف الإنتاج باستخدام التنمية بنظام الدفعة الواحدة، ويوضح المخطط التالي خطوات إنتاج حمض الإيتاكونيك من حمض البيروفيك :



شكل (٩-١١): خطوات إنتاج حمض الإيتاكونيك من حمض البيروفيك

الاستخلاص Extraction

يتم الحصول على حمض الإيتاكونيك عن طريق ترشيح السائل المتخمر الناتج بعد انتهاء فترة التخمير والتخلص من الكتلة الحيوية للميسيليوم، ويستخدم الكربون النشط لإزالة اللون ثم إعادة الترشيح ويتم الحصول على بلورات حمض الإيتاكونيك عن طريق التسخين حتى التبخير مع التقليب المستمر.

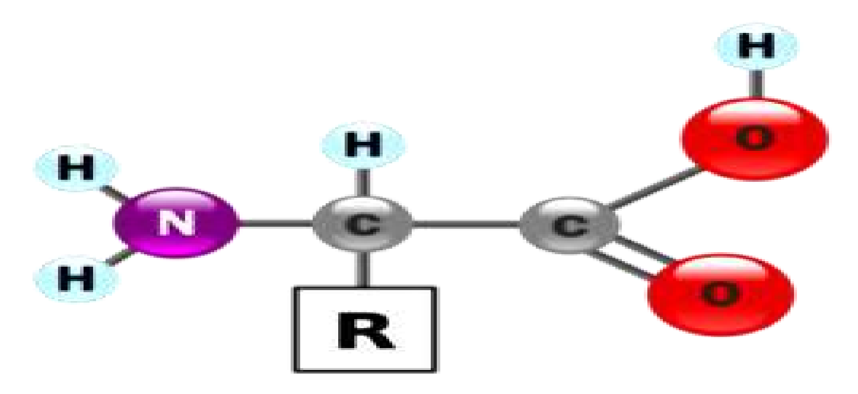
الفصل العاشر

استخدام الكائنات الحية الدقيقة فى إنتاج الأحماض الأمينية

Using of microorganisms in amino acids production

أهمية الأحماض الأمينية Importance of amino acids

الأحماض الأمينية هي الوحدات الكيميائية أو الوحدات البنائية أو"اللبنات" التي تتكون منها البروتينات، تحتوي الأحماض الأمينية على حوالي١٦٪ من النيتروجين، ومن الناحية الكيميائية فإن هذا هو ما يميزها عن المواد الغذائية الرئيسية الأخرى، ولكي ندرك مدى حيوية هذه الأحماض الأمينية فإننا يجب أن ندرك مدى ضرورة البروتينات للحياة، والبروتين هو الذي يعطي البنية التركيبية لكل الكائنات الحية، فكل كائن حي من أضخم حيوان إلى أدق ميكروب يتكون أساساً من البروتين ، والبروتين بمختلف صوره وأشكاله يساهم في العمليات الكيميائية الحيوية التي تحفظ الحياة وتعمل على استمراريتها.



شكل (١٠-١):الشكل الفراغى للأحماض الأمينية

وتتكون البروتينات من سلاسل من الأحماض الأمينية ترتبط ببعضها البعض بما يسمى الروابط الببتيدية Peptide bonds، وكل نوع من البروتين يتكون من مجموعة من الأحماض الأمينية في ترتيب كيميائي معين، وتلك الأحماض الأمينية المعينة أو المحددة الموجودة والطريقة التي ترتبط بها ببعضها البعض بشكل متتابع هي التي تعطي البروتينات التي تبني الأنسجة المختلفة وظائفها الفريدة

وخصائصها المميزة، وكل بروتين في الجسم يكون مكرساً لوظيفة أو حاجة محددة فلا يمكن لبروتين أن يحل محل بروتين أخر وظيفياً.

والبروتينات التي تشكل بنيان الجسم لا تأتي هكذا مباشرة من الطعام ولكن البروتين الغذائي يتم هضمه وتحلله في القناة الهضمية حتى يتحول إلى مكوناته من الأحماض الأمينية التي يمتصها الجسم ويمثلها لكي يبني بها البروتينات المحددة التي يحتاجها، وهكذا فإن الأحماض الأمينية بالذات وليست البروتينات مجردة هى التى تعد العناصر الغذائية الضرورية.

وبالإضافة إلى اتحاد الأحماض الأمينية معا لتشكيل بروتينات الجسم، فإن بعض الأحماض الأمينية تعمل كناقلات عصبية أو كمواد تتكون منها تلك الناقلات العصبية وهي الكيميائيات التي تحمل المعلومات من خلية عصبية إلى أخرى، وهكذا تكون بعض الأحماض الأمينية المعينة ضرورية للمخ لكي يتلقى ويرسل الرسائل العصبية، وبعكس مواد أخرى كثيرة فإن الناقلات العصبية تكون قادرة على عبور الحاجز بين الدم والمخ، وهذا الحاجز هو نوع من الدرع الدفاعي الذي خلقه الله لحماية المخ من السموم والمواد الغريبة التي قد تسري في مجرى الدم، والخلايا البطانية التي تشكل جدرا لشعيرات الدموية في المخ تكون متلاصقة فيما بينها بشكل يغرق ما يوجد في الشعيرات الدموية في أي مكان أخر بالجسم، وهذا يمنع أية مواد خاصة تلك القابلة للذوبان في الماء من التسرب عبر جدر الشعيرات الدموية إلى أنسجة المخ ، ونظرا لأن بعض الأحماض الأمينية يمكنها أن تعبر من خلال هذا الحاجز فإن المخ يمكنه أن يستخدمها للاتصال بالخلايا العصبية التي توجد في أي مكان أخر بالجسم، والأحماض الأمينية أيضاً تمكن الفيتامينات والمعادن من أداء وظائفها بكفاءة، فحتى لو قام الجسم بامتصاص الفيتامينات والمعادن وتمثيلها، فإنها لا تكون فعالة إلا في وجود الأحماض الأمينية الضرورية فعلى سبيل المثال فإن انخفاض مستويات الحمض الأميني تيروسين قد يؤدي إلى نقص الحديد.

كما أن نقص أو انخفاض أيض الأحماض الأمينية ميثيونين وتيروسين ترتبط بحالات الحساسية واضطرابات المناعة الذاتية, وكثير من الأشخاص المسنين يعانون الاكتئاب أو المشكلات العصبية التي قد تكون مصحوبة بحالات نقص الأحماض

الأمينية التيروسين – التريبتوفان – الفينيل ألانين – الهستيدين وكذلك الأحماض الأمينية ذوات السلاسل المتفرعة مثل الفالين والأيسوليوسين والليوسين وهي أحماض أمينية يمكن أن تستخدم لإعطاء الطاقة مباشرة إلى النسيج العضلي، وتستخدم جرعات عالية من الأحماض الأمينية متفرعة السلاسل في المستشفيات لعلاج الأشخاص الذين يعانون من الإصابات والعدوى.

ويوجد ٢٨ حمضاً أمينياً تقريباً من الأحماض الأمينية المعروفة والشائعة التي ترتبط ببعضها بطرق مختلفة لتشكيل مئات من الأنواع المختلفة من البروتينات التي توجد في جميع الكائنات الحية، وفي جسم الإنسان ينتج الكبد حوالي ٨٠٪ من الأحماض الأمينية التي يحتاجها الجسم، والـ ٢٠٪ الباقية يجب أن يحصل عليها الجسم من الغذاء، وهذه تسمى الأحماض الأمينية الأساسية ، والأحماض الأمينية الأساسية التي يجب أن يحصل عليها الجسم من الغذاء هي الهيستيدين – الأيسوليوسين – الليوسين – الليسين – الميثيونين – الفينيل ألانين – الثريونين – التريبتوفان –الفالين.

أما الأحماض الأمينية غير الأساسية التي يمكن تخليقها في الجسم من أحماض أمينية أخرى يتم الحصول عليها من مصادر غذائية فتشمل الألانين – الأرجنين – الأسباراجين – الأسبارتيك –السيترولين – السيستئين – السيستين – جاما أمينوبيوتيريك –الجلوتاميك – الجلوتامين – الجليسين – الأورنيثين – البرولين – السيرين– التيروسين، وتسمية تلك الأحماض الأمينية غير الأساسية لا تعني أنها غير ضرورية، بل تعني فقط أنها لا يشترط توافرها في الغذاء إذ أن الجسم يمكنه إنتاجها عند الحاجة إليها.

إن عمليات تمثيل الأحماض الأمينية لصنع البروتينات، وتكسير البروتينات إلى أحماض أمينية ليستخدمها الجسم هي عمليات مستمرة، فعندما نحتاج إلى بروتينات لصنع الإنزيمات، فإن الجسم ينتج المزيد من البروتينات الخاصة بالإنزيمات، وعندما نحتاج إلى مزيد من الخلايا، فإن الجسم ينتج المزيد من بروتينات الخلايا، وهذه الأنواع المختلفة من البروتينات يتم إنتاجها كلما ظهرت الحاجة إليها، فإذا نضب المخزون من الأحماض الأمينية الأساسية، فإن الجسم لن يمكنه إنتاج البروتينات

التي تحتاج إلى تلك الأحماض الأمينية، وحتى لو غاب حمض أميني أساسي واحد فإن الجسم لن يمكنه الاستمرار في إنتاج البروتين بكفاءة، وهذا قد يؤدي إلى نقص في البروتينات الحيوية في الجسم مما قد يسبب مشكلات تتراوح من عسر الهضم إلى الاكتئاب،كيف يمكن أن يحدث مثل هذا الموقف؟ إن الأمر أكثر سهولة مما نتصور، فتوجد عوامل كثيرة يمكن أن تساهم في حدوث حالات نقص في الأحماض الأمينية الأساسية حتى لو تناولت غذاء جيدا ومتوازناً يحتوي على ما يكفي من البروتين، ومن هذه العوامل نقص الامتصاص، العدوى، الإصابات، التوتر، تعاطي الكحوليات أو المخدرات، التقدم في السن، اختلال التوازن في العناصر الغذائية الأخرى، وهذه العوامل يمكن أن تؤثر على توافر الأحماض الأمينية الأساسية في الجسم، وإذا لم يكن الغذاء متوازناً بشكل سليم أي إذا لم يمد الجسم بكميات كافية من الأحماض الأمينية الأساسية فإنه عاجلا أو أجلا سوف يظهر هذا النقص في صورة نوع من الخلل الجسماني.

ومع ذلك فهذا لا يعني أن الحل يكمن في تناول طعام يحتوي على كميات هائلة من البروتين، فهذا في الواقع يكون حلاً غير صحي، فكثرة البروتين تضع عبئاً ثقيلا على الكبد والكلى اللذين يكون لزاماً عليهما التعامل مع نفايات التمثيل الغذائي للبروتين والتخلص منها، وحوالي نصف الأحماض الأمينية في بروتين الغذاء يتحول إلى جلوكوز عن طريق الكبد ويتم الاستفادة بهذا الجلوكوز للحصول على الطاقة اللازمة لنشاط الخلايا، وهذه العملية ينتج عنها إحدى النفايات وهي النشادر (الأمونيا)، والنشادر مادة سامة للجسم، لذا فإن الجسم يحمي نفسه بجعل الكبد يقوم بتحويل النشادر إلى مادة أقل سمية من البولينا (اليوريا) التي تسري مع تيار الدم إلى الكليتين حيث يتم ترشيحها والتخلص منها مع البول.

وطالما أن كمية البروتين التي يتم تناولها ليست كبيرة جدا والكبد يعمل بكفاءة، فإن النشادر يتم معادلتها أولا بأول تقريبا لذا فإنها لا تسبب ضررا للجسم، ومع ذلك فإذا تكونت كميات كبيرة من النشادر أكبر من قدرة الكبد على التعامل معها بسبب الإسراف في تناول البروتين أو بسبب عسر الهضم أو بسبب خلل في وظائف الكبد فقد يحدث تراكم للنشادر إلى مستويات سامة، وممارسة مجهود جسماني مضن يميل

أيضاً إلى التسبب في تراكم النشادر في الدم، وهذا قد يسبب مشكلات صحية خطيرة وتتضمن الاختلال المرضي المخي أو الغيبوبة الكبدية Hepatic coma، وارتفاع مستويات اليوريا بشكل غير طبيعي يمكن أن يسبب مشكلات صحية وتتضمن التهاب الكلى وألام الظهر، لذا فإن المهم في الأمر ليس مجرد كمية البروتين التي يتم تناولها، ولكن الأهم هو نوعية هذا البروتين وما يحتويه من أحماض أمينية يحتاجها الجسم، ومن الممكن تناول مكملات تحتوي على الأحماض الأمينية (أساسية وغير أساسية)، وعند الإصابة باضطرابات مرضية معينة يكون من المفيد تناول مكملات تحتوي على حمض أميني محدد أو مجموعة من أحماض أمينية بعينها، وهي تقوم حينئذ بتدعيم عمليات الأيض التي يكون الخلل فيها مسئولا عما أصابك من حالة مرضية، ويجب على النباتيين بصفة خاصة الحرص على أن يتضمن غذاؤهم جميع الأحماض الأمينية التي يحتاجها الجسم وإلا أصيبوا بالضرر.

وتمثل تقنية إنتاج الأحماض الأمينية بواسطة الأحياء الدقيقة أهمية كبيرة في السنوات الأخيرة ، خصوصاً بعد إنتاج حمض الجلوتاميك والأسباراجين في اليابان عام ١٩٥٧ م، كما تنتج بعض أنواع من البكتريا الأحماض الأمينية ذات الأهمية الغذائية والدوائية العالية عن طريق تخليقها من مركبات نيتروجينية غير عضوية، وقد يكون إنتاج الأحماض الأمينية داخل الخلايا الميكروبية يزيد بكثير عن حاجة الكائن الحى الدقيق فيتم إفرازها إلى الوسط الخارجي المنمى عليه الميكروب حيث يسهل استخلاصها للحصول عليه، وتنقسم الأحماض الأمينية إلى قسمين حسب أهميتها لجسم الإنسان.

١-القسم الأول يشمل الأحماض الأمينية الأساسية وهى التي لا يستطيع الإنسان تخليقها ويلزم إمداده بها من الخارج وهى تتواجد فى اللحوم والبيض واللبن والمنتجات الحيوانية.

٢-القسم الثاني يشمل الأحماض الأمينية غير الأساسية حيث يمكن للإنسان أن يخلقها داخله ، وقد استخدمت بعض أنواع البكتريا لإنتاج مثل هذه النوعية من الأحماض الأساسية وبكميات كبيرة لم تكن فى الحسبان.

إنتاج الأحماض الأمينية Production of amino acids

إنتاج الحمض الأميني الليسين Production of lysine

أهمية حمض الليسين

- يساعد على امتصاص الكالسيوم بصورة جيدة .
- يساعد على تكوين الكولاجين الذى يوجد فى الغضاريف والأنسجة الرابطة.
- يساعد فى إنتاج الأجسام المضادة والهرمونات والإنزيمات.
- التقليل من نمو الفيروسات وبالتالى الوقاية من بعض الأمراض.
- عند قلته يحدث تعب وعدم تركيز وإعاقة النمو وأنيميا.

يعتبر الليسين مكمل غذائي للإنسان الذي يقتصر غذائه على البروتينات النباتية، لأنه من المعروف أن البروتين النباتي يفتقد وجود هذا الحمض الأمينى، وتستخدم بكتريا *Brevibacterium flavum* & *E .coli* فى التخليق الحيوى لهذا الحمض على المستوى الصناعى، وقد تم الحصول على طفرات لهذه السلالة لها قدرة عالية على إنتاج هذا الحمض الأمينى كما أمكن أيضاً استغلال سلاسة معدلة وراثياً هى *Corynebacterium glutamicum* فى الإنتاج التجارى لهذا الحمض من خلال تعديل مسارات التخليق الحيوي فى هذه السلالة مما يمكن من إنتاج كميات كبيرة من الليسين.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Suborder:Micrococcineae

Family:Brevibacteriaceae

Genus:*Brevibacterium*

Species:*Brevibacterium flavum*

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

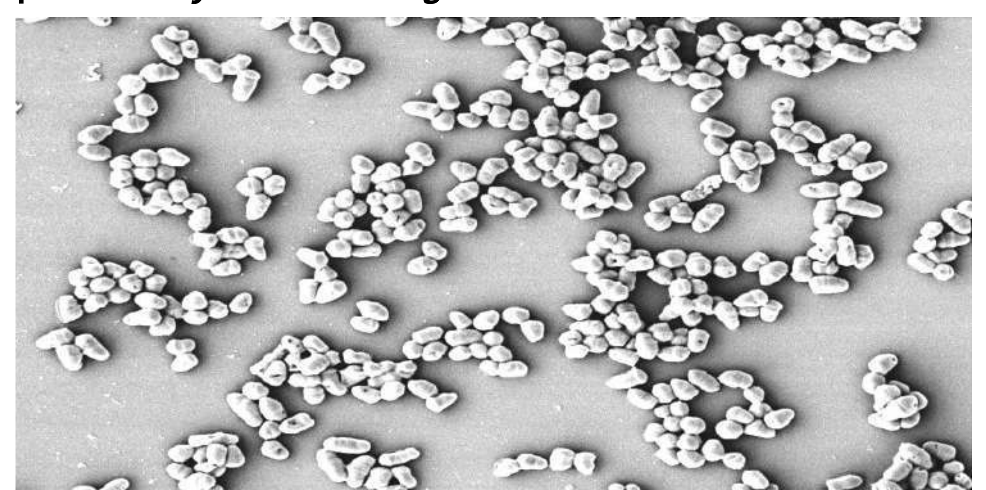
Order:Actinomycetales

Suborder:Corynebacterineae

Family:Corynebacteriaceae

Genus:*Corynebacterium*

Species:*Corynebacterium glutamicum*



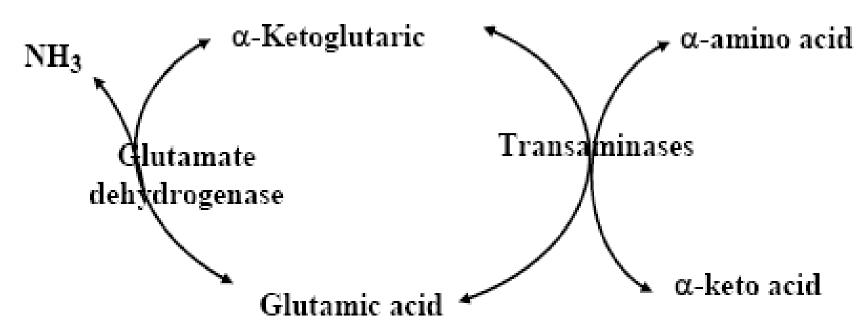
شكل (١٠-٢):*Corynebacterium glutamicum*

خطوات إنتاج الليسين

تنمي بكتريا *E, coli* علي بيئة تحتوى على المولاس أو الجليسرول وسائل منقوع الذرة وفوسفات الأمونيوم تحت ظروف مناسبة من التهوية والحرارة و pH وبعد ٣ أيام من التحضين يتكون حمض داي أمينو بيميليك(DAP) ، ويتم تحويل DAP إلي الليسين عن طريق نزع مجموعة كربوكسيل بواسطة ميكروب *Enterobacter aerogenes*.

كما تستخدم سلالات *Brevibacterium* strain VTP-202 أو *Corynebacterium glutamicum* علي بيئة المولاس الناتج من قصب

السكر لإنتاج الليسين ويستخدم الناتج في تحسين أعلاف الدواجن وقد تم إنتاج ٢٠٠-٣٠٠ مجم من حمض الليسين/لتر.



شكل (١٠-٣): التخليق الحيوى للأحماض الأمينية

α-ketoglutarate $\xrightarrow{1}$ A $\xrightarrow{2}$ B $\xrightarrow{3}$ C $\xrightarrow{4}$

α-aminoadipate $\xrightarrow{5}$ D $\xrightarrow{6}$ E $\xrightarrow{7}$ Lysine

شكل (١٠-٤): التخليق الحيوى لحمض الليسين

أما السلالة *Ustilago maydis* أنتجت ٠٠ ٧-٨٠٠ مجم/لتر باستخدام المزارع المغمورة مع التحريك المستمر في بيئة تحتوي علي جلوكوز ويوريا، وبالهندسة الوراثية تم الحصول علي بعض التحويرات للسلالة *Micrococcus glutamicus* باستخدام الأشعة فوق البنفسجية حيث ازداد الإنتاج إلي٢٠جم ليسين/لتر.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

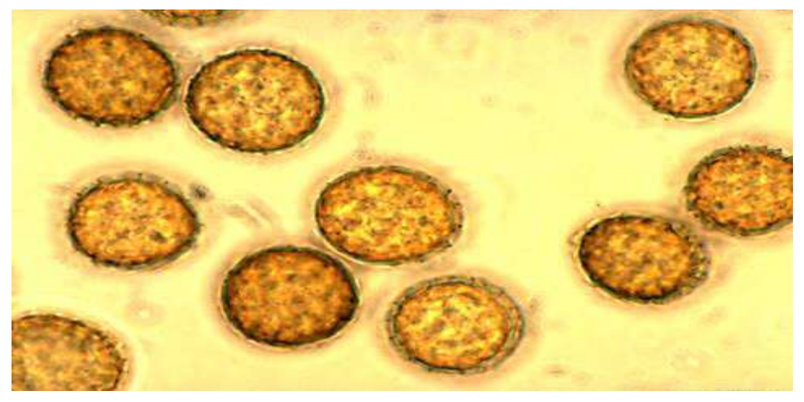
Phylum:Basidiomycota

Class:Ustilaginomycetes

Order:Ustilaginales

Genus*:*Ustilago

Species:*U. maydis*



شكل (١٠-٥): جراثيم فطر*Ustilago maydis*

إنتاج حمض الجلوتاميك Production of glutamic

أهمية حمض الجلوتاميك

- يحسن من الأداء العقلى بصورة جيدة.
- يسرع من شفاء القرح.

ومن خلال البحث عن إنتاج جلوتامات الصوديوم لأجل تحسين نوعية المنتجات الغذائية أمكن الحصول علي حمض الجلوتاميك بواسطة تحلل بعض بروتينات

النباتات ، ولقد بدأت أول الدراسات للتقنية الميكروبيولوجية في هذا المجال تأخذ محلها لإنتاج حمض الجلوتاميك عام١٩٥٦م حيث تمكن بعض الباحثين من عزل بعض الميكروبات المنتجة لهذا الحمض في وسط غذائي يحتوي علي جلوكوز وأيونات الأمونيا ومن أمثلة الكائنات الحية الدقيقة المنتجة ***Micrococcus glutamicus , Brevibacterium divaricatum***.

ويتم الإنتاج باستخدام بيئة تحتوى على المولاس مع إضافة مصدر نيتروجينى مثل الببتون بمعدل ٢,٥ جرام /لتر بيئة وبعض الأملاح المعدنية والتحضين علي٣٠ ° م /٤٨ ساعة حيث يتحول ألفا كيتو جلوتاريك الناتج من التخمير بواسطة الميكروب إلى الجلوتامين وعند توفر الظروف المناسبة فإنه يستطيع إنتاج٥٠ جم حمض الجلوتاميك/ لتر بيئة.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Class:Actinobacteria

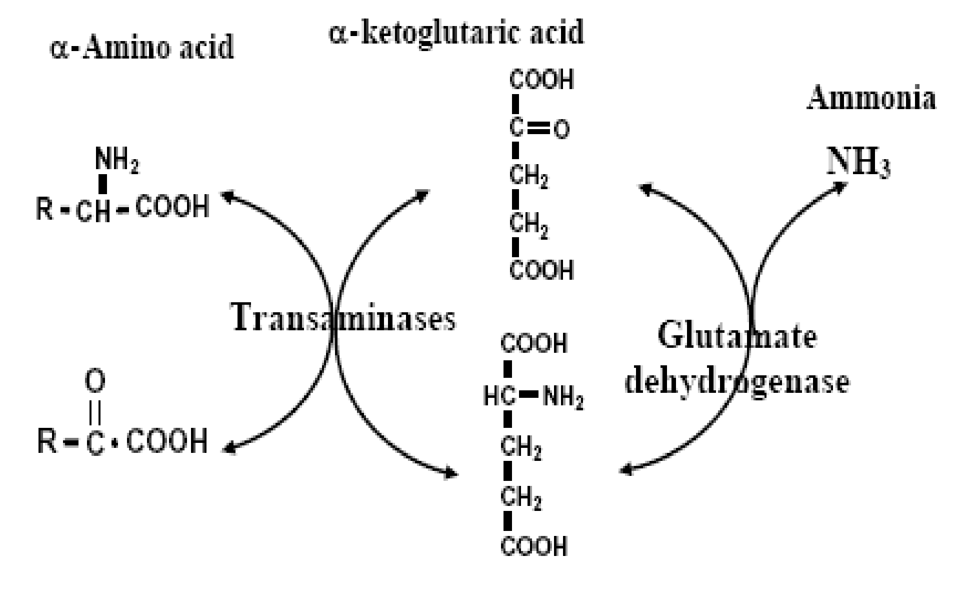
Order:Actinomycetales

Suborder:Micrococcineae

Family:Micrococcaceae

Genus:*Micrococcus*

Species:*Micrococcus glutamicus*



شكل (١٠-٦): خطوات التخليق الحيوى لحمض الجلوتاميك

خطوات إنتاج حمض الجلوتاميك

يتم الإنتاج تخميرياً بطريقتان كمايلى:

١-علي مرحلة واحدة **Single stage** وفيها تنمي الكائنات الحية الدقيقة علي مصدر كربوهيدراتي(المولاس) ومصدر نيتروجنيني(الببتون).

٢-على مرحلتين **Two stage** وهذه الطريقة تعتمد علي الإنتاج الميكروبي لـ **α -ketoglutaric acid** بواسطة الميكروب المنتخب أو بواسطة مستحضرات إنزيمية، ويوجد عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة تنتج **α-ketoglutaric acid** ومنها ***Pseudomonas fluorescence***.

- بعد معادلة حموضة الوسط (pH) وعند درجة حرارة°٣٠م يتحول ٦٠٪ من **α -ketoglutaric acid** إلي حمض الجلوتاميك ، ونتيجة لهذه الدراسة تم الحصول علي ٣٠ ٪ من حمض الجلوتاميك من الجلوكوز المستخدم كمصدر للكربون، كما استخدمت هذه الطريقة مع الكائنات الحية الدقيقة الأخرى مثل ***Xanthomonas*** **sp.,** ***Saccharomyces*** **sp.,** ***Aspergillus*** **sp.,** ***Pseudomonas*** **sp.** وعند pH٦,٨-٨,٥ ودرجة حرارة٢٥° م.

- أما السلالة *Micrococcus glutamicus* فتعطي أعلي حيوية للإنزيم الذى يعمل علي مجموعة الأمين، كما يمكن الحصول علي حمض الجلوتاميك من حمض الفيوماريك بواسطة

B. pumilus, B. subtilis, B.natto, B. mesentericus, B.cereus, .E. coli, Serratia marcescens, Xanthomonas prnui

إنتاج الحمض الأميني التربتوفان Production of tryptophan

أهمية الحمض الأميني التربتوفان

- هذا الحمض له أهمية في صناعة الفيتامينات والمكملات الغذائية.
- يساعد على الاسترخاء والتقليل من الأرق والتوتر والقلق والاكتئاب.
- يساعد أيضاً فى علاج الصداع النصفى والتحسين من جهاز المناعة والتقليل من أخطار أمراض القلب والشرايين.
- يعمل مع حمض الليسين على تقليل معدلات الكوليسترول فى الجسم.

ويوجد العديد من الكائنات الحية الدقيقة تستطيع أن تنتج هذا الحمض الأميني ومنها:

Torulopsisutilis, Candida parapsilosis , *Hansenula* spp., *,Candida tenuis.*

تنمى الميكروبات على مولاس بنجر السكر كمصدر للكربون مع إضافة مصدر نيتروجينى وفوسفاتى ويجب إضافة حمض الإنثرانيليك كمادة بادئة لإنتاج التربتوفان، ويمكن إنتاج هذا الحمض بواسطة الكائنات الدقيقة الحية الأخرى من نوع *Claviceps purpurea* باستخدام مادة الإندول كمادة بادئة حيث أعطت إحدى المزارع كمية تقدر بـ ١,٥ جم/ لتر.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Sordariomycetes

Subclass:Hypocreomycetidae

Order:Hypocreales

Family:Clavicipitaceae

Genus:*Claviceps*

Species:*Claviceps purpurea*

شكل (١٠-٧): التخليق الحيوى لحمض التربتوفان

إنتاج الحمض الأميني الثريونين Production of therionine

أهمية الحمض الأميني ثريونين

- **يلعب دور أساسى فى تكوين الكولاجين.**
- **يساعد فى منع تراكم الدهون على الكبد.**
- **يساعد أيضاً فى عملية الهضم و الامتصاص.**

ويعتبر إنتاج الحمض الأميني L-Threonine بواسطة الكائنات الحية الدقيقة ذو أهمية كبير في مجال الصناعة ، حيث يتطلب التحضير الكيميائي لهذا الحمض من المصادر الخام الطبيعية أو المصادر التقليدية الكثير من الجهد والتكلفة.

وفي سنة ١٩٥١ م تم اكتشاف السلالة المتحورة من البكتريا *E.coli* والتى يمكنها إنتاج كمية من حمض L- Threonine تقدر بـ ٢-٣ جم/ لتر ثريونين

عند تنميتها علي بيئات محتوية علي D,L- Homoserine كأحد المكونات الأساسية للبيئة تحت ظروف خاصة من التهوية، وفي بداية عام١٩٦٩ م اكتشف إنتاج السلالة ***Arthrobacter paraffineus*** للثريونين حيث أنتجت ١٠ جم/لتر بيئة غذائية من الثريونين ، ويتم إنتاج L–Threonine بواسطة طريقتين الأولى مباشرة والأخرى غير مباشرة.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Actinobacteria

Class:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Family:Micrococcaceae

Genus:*Arthrobacter* **Species:*Arthrobacter paraffineus***

- **الطريقة المباشرة**

للحصول علي سلالات إكسوتروفية من النوع ***E, coli***والتى يمكن توجيهها بإيقاف عملية التمثيل الأيضي عند نقاط مختلفة، تم إنتاج الحمض الأمينى Threonine بحدود إنتاجية تقدر١٠٠–٣٠٠ مجم ثريونين/ لتر و٢٠ مجم/لتر من Diaminopimilic acid و٢٠ مجم/ لتر من الليسين .

ونتيجة لتطفير هذه السلالة والحصول على سلالات متحورة فقد تم الحصول علي أعلى إنتاج للأحماض الأمينية خصوصاً الثريونين مرتبطاً مع Diaminopimilic acid وعند نمو الطفرات على البيئة ذات المكونات المثالية والتى تتكون من٢ ٪ مانيتول ، ١٥,٪ $(NH_4)_2SO_4$ ، ٧,٪ K_2HPO_4 ، ١,٪ $MgSO_4$–$7H_2O$ تم الحصول على١٢٠مللى جرام ثريونين / لتر بيئة عند التحضين على ٣٧ ^{o}م.

- **الطريقة غير المباشرة لإنتاج الثريونين**

بعض الأجناس البكتيرية يمكنها تحويل الهوموسيرين إلي L–Threonine ، وأعلى كمية من هذا الحمض يمكن الحصول عليها من السلالة *B.subtilis,*

أعلي إنتاج تم الحصول عليه من السلالة *Xanthomonas citri* النامية فى بيئة غذائية تحتوى على ١٪ جلوكوز، ٢,٪SO_4 $(NH_4)_2$، ٢, ٪ K_2HPO_4، ٣,٪$MgSO_4–7H_2O$ ، ٢ ,٪$CaCO_3$ ولقد تم الحصول على٥ جم/ لتر من Threonine.

شكل (١٠–٨): التخليق الحيوى لحمض الثريونين

إنتاج حمض الألانين Production of alanine

أهمية حمض الألانين

- مصدر مهم جدا للطاقة.
- يحسن من عمل جهاز المناعة.
- يساعد فى حرق السكر والأحماض العضوية.

ويوجد العديد من الكائنات الحية الدقيقة التى يمكنها تخليق حمض الألانين مثل *Corynebacterium fascians* التى تنتج ٧جم / لتر ألانين من الجليسرول بعد ٩٦ ساعة ، وكذلك السلالة البرية من *Brevebacterium flavum* التى تنتج ١٤٥مللى جرام /١٠٠ مللى لتر من البيئة المحتوية على مستخلص البلح المضاف

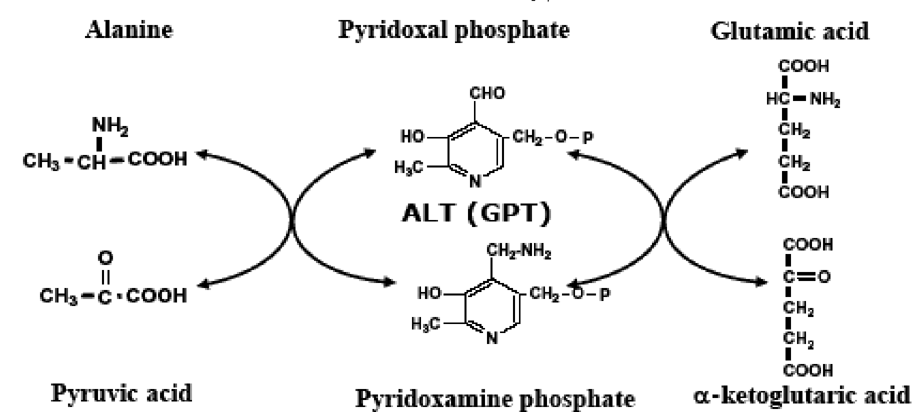
إليه مستخلص اللحم ، ولقد أمكن زيادة محصول الحمض الأمينى إلى ٢٦٠ مللى جرام/ ١٠٠ مللى لتر بإضافة بيروفات الصوديوم بتركيز ٨٩, ٪ .

طرق تخليق الألانين

يوجد طريقتان لتخليق حمض الألانين هما:

الطريقة الأولى هي المباشرة بالاعتماد علي المصدر الكربوهيدراتي حيث يتم تحويل حمض الأسباراجين إلي حمض ألانين بواسطة السلالة ***Achromobacter alcaligenus***والتى تحتاج إلي بيئة غذائية ذات محتوي من سكر الزيلوز ويمكن إضافة مستخلص اللحم إلي الوسط ، كذلك يمكن إضافة مستخلص الخمائر ، أو مستخلص الذرة الصفراء بنسبة٢,٠٪ مع إضافة $CaCO_3$بمعدل ١٪ ويتم التحضين في المحضن الهزاز عند درجة حرارة ٣٠ °م ولمدة ٢٤ ساعة.

أما إنتاج الألانين من السلالة ***Corynebacterium gelatinosum*** فتحتاج إلي حمض الجلوكونيك وألفاكيتوجلوتارات وكمية قليلة من حمض الجلوتاميك ، أما إنتاج حمض الألانين من السلالة ***Ustilago maydis*** الإكسوتروفية التى تحتاج إلي حمض النيكوتينيك لتكون ٢٠جم/ لتر ألانين عند استهلاكها حمض الجلوكونيك.



شكل (١٠-٩): التخليق الحيوى لحمض الألانين

- **طريقة انتزاع الكربوكسيل من حمض الأسباراجين**

إن الطريقة الثانية لتخليق حمض **L-Alanine** هي بواسطة انتزاع مجموعة كربوكسيل من الحمض **L-Aspartic acid** حيث إن إنزيم **β-decarboxylase** يؤثر علي **L-Aspartic acid** وأن كثيرا من الكائنات الحية الدقيقة تحتوى علي

هذا الإنزيم خصوصا السلالة *Xanthomonas oryzae* التى عند الرقم الهيدروجيني ٦,٦ تقوم بتحويل حمض الأسباراجين إلي **L–Alanine** عند درجة حرارة ٤٠ °م.

إنتاج حمض الميثيونين Production of methionine

أهمية حمض الميثيونين

- حمض الميثيونين هو أحد اثنين من الأحماض الأمينية التى تستعمل في أشكال كثيرة ومختلفة في الصناعات الغذائية حيث يستعمل لتغذية الدواجن.
- يعتبر مصدر أساسى للكبريت.
- يقلل من معدل الكوليسترول لأنه يساعد الكبد على إنتاج الليسيثين ويقلل من دهون الكبد.
- ينظم إنتاج المعادن مثل الأمونيا ويقلل من التهاب المثانة.

والدراسات في هذا المجال محدودة للحصول علي هذا الحمض ويمكن إنتاجه بواسطة الأحياء الدقيقة التالية :

Torula lactis, Pseudomonas xanthe, Streptomyces erythrus, Serratia marcescens and *Penicillium islandicum.*

حيث يمكنها إنتاج الميثيونين ، وأعلى إنتاج تم الحصول عليه من السلالة *Pseudomonas xanthe*هو ١٣,٢ جم ميثيونين/ لتر بيئة غذائية.

Scientific classification

Domain:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Gammaproteobacteria

Order:Pseudomonadales

Family:seudomonadaceae

Genus:*Pseudomonas* **Species:*Pseudomonas xanthe***

شكل (١٠-١٠):التخليق الحيوى لحمض الميثيونين من حمض الأكسالوأسيتيك

شكل (١٠-١١):التخليق الحيوى لحمض الميثيونين من حمض الأسبارتيك

إنتاج حمض الأسباراجين Production of asparagine

أهمية حمض الأسباراجين

- يساعد فى طرد الأمونيا الضارة من الجسم.
- يقلل من الاكتئاب.
- يزيد من القدرة على التحمل.

ويمكن الحصول علي الأسباراجين بطريقة ميكروبيولوجية بواسطة تحويل حمض الفيوماريك بواسطة السلالة ***Bacillus megaterium*** والتى تستطيع أن تحول ٨٠٪ من حمض الفيوماريك إلي حمض الأسباراجين، أما السلالات ***E.coli* K12**, ***Pseudomonas fluorescence***فإنها أيضا تنتج حمض الأسباراجين من حمض الفيوماريك بواسطة عملية **Transamination** وبنسبة ٩٥٪ ، وبتطور علم البيوتكنولوجي فقد تم تحويل ٩٩٪ من حمض الفيوماريك إلي حمض أسباراجين بواسطة السلالة ***E.coli*** باستخدام لقاح ١٪ وفي بيئة غذائية تحتوي علي ٥٪ فيومرات الأمونيا عند **pH** ٧,٢ ودرجة حرارة٣٧ ° م وفترة تحضين ٤٨ ساعة.

HOOC–CH=CH–COOH ⟶ $H_2N-C(=O)-CH_2-CH(NH_2)-COOH$

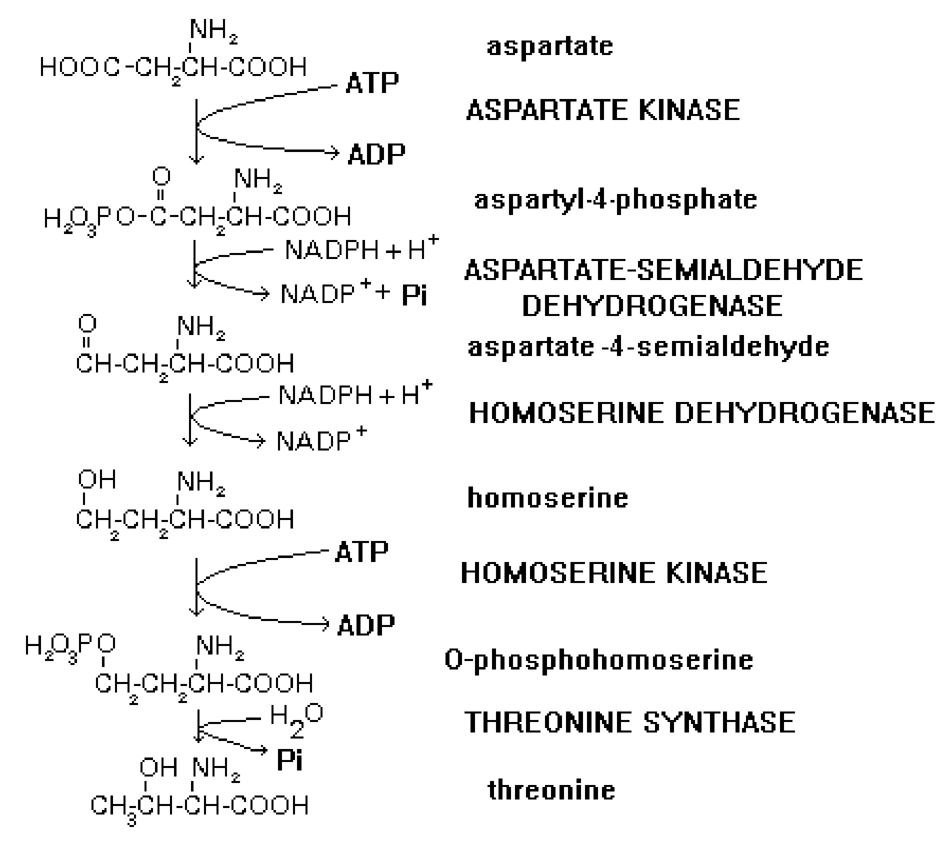
حمض فيوماريك حمض أسباراجين

شكل (١٠-١٢): تحول حمض الفيوماريك إلى حمض الأسباراجين

إنتاج حمض الأورنثين Production of ornithine

يتم إنتاج حمض **L-Ornithine** من السلالات المتحورة كالسلالة ***Micrococcus glutamicus***، وعند ظروف تحضين على ٢٨ °م وفترة تحضين ٧٢ ساعة تستطيع هذه السلالة أن تنتج كمية من هذا الحمض تقدر بـ ٢٦,٢ جم/لتر من البيئة الغذائية ذات المكونات التالية :

١٪ جلوكوز، ٠,١٪ K_2HPO_4، ٢٥ , $MgSO_4, 7H_2O$٪ ، ١ , NH_4Cl٪، ٣٠ ,٪كارباميد،٥, ٪مستخلص الذرة الصفراء، 7-6,8 **pH** .



Threonine biosynthesis (Bryan 1980)

شكل (١٠-١٣):التخليق الحيوى لحمض الثريونين

إنتاج حمضى Phenylalanine & Tyrosine production

أهمية حمض التيروزين

- يعمل على نقل النبضات العصبية للمخ.
- يحسن من أداء الذاكرة والتغلب على الاكتئاب.
- يساعد على الإحساس بالنشاط.

أهمية حمض الفينيل ألانين

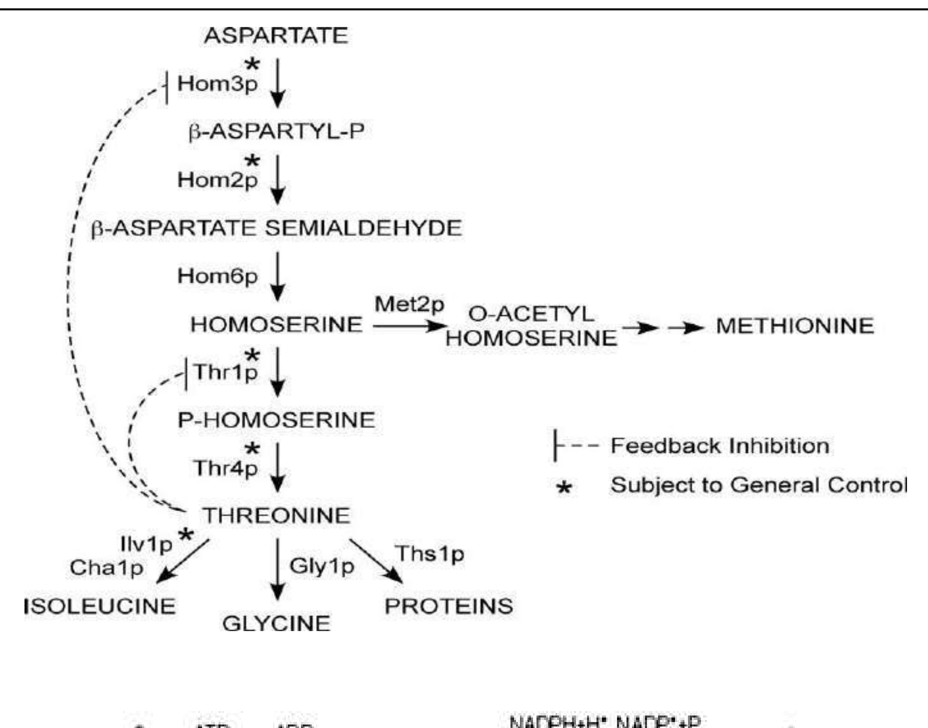
- يستعمله المخ لينتج مركب كيميائى ينقل الإشارات بين الخلايا العصبية والمخ.
- يسبب النشاط وتقليل ألام الإحساس بالجوع بجانب تحسين الذاكرة والتقليل من الاكتئاب.

وفي السنوات الأخيرة ونتيجة التطور البيوتكنولوجي تم التعرف علي سلالة متحورة من ***E.coli*** تنتج **L-Tyrosine** و**L-Phenylalanine** حيث تم الحصول علي ٢ جم/ لتر منهما، وقد تم الحصول علي سلاله من نوع ***Micrococcus glutamicus*** أنتجت ٢,٥ جم فنيل ألانين/ لتر بيئة.

شكل (١٠-١٤): التخليق الحيوى لحمضى التيروزين والفينيل ألانين

إنتاج حمض الهوموسيرين Homoserine production

يمكن للسلالة الإكسوتروفية ***Micrococcus glutamicus*** التى تخلق الثريونين أن تخلق L- هوموسيرين وبحدود ٧ جم/لتر في البيئة الغذائية باستخدام حاضن هزاز ودرجة حرارة ٢٨ °م ،وفي بيئة تحتوى على١ ٪ جلوكوز،٢, ٪ $(NH_4)_2\ SO_4$ ،٥, ٪ مستخلص خميرة ، ٣, ٪ $MgSO_4,7H_2O$،١, ٪ K_2HPO_4 ،٥, ٪ $CaCO_3$ ، ١٪ ببتون.



شكل (١٠-١٥): التخليق الحيوى لحمض الهوموسيرين

إنتاج حمض الأيزوليوسين Isoleucine production

أهمية حمض الأيزوليوسين

يعتبر من الأحماض الأمينية الضرورية لبعض العمليات البيوكيميائية المهمة فى الجسم التى تتضمن إنتاج الطاقة وتنبيه المخ والشعور بالنشاط والحيوية ، وحمض الأيزوليوسين هو أحد أغلى الأحماض الأمينية ، والكميات المنتجة من هذا الحمض قليلة ، ويعتمد إنتاجه علي مكونات البيئة الغذائية المستخدمة ، ونوعية الكائنات الحية الدقيقة ، حيث أن الكثير من الأحياء الدقيقة تستطيع أن تنتج الأيزوليوسين مثل بكتريا *B. subtilis* التى تنتج١٢-٢٠جم أيزوليوسين/ لتر عندما تنمى علي بيئة معقدة تحتوي علي أحماض أمينية ودهنية وعند ظروف تهوية ملائمة باستخدام محضن هزاز.

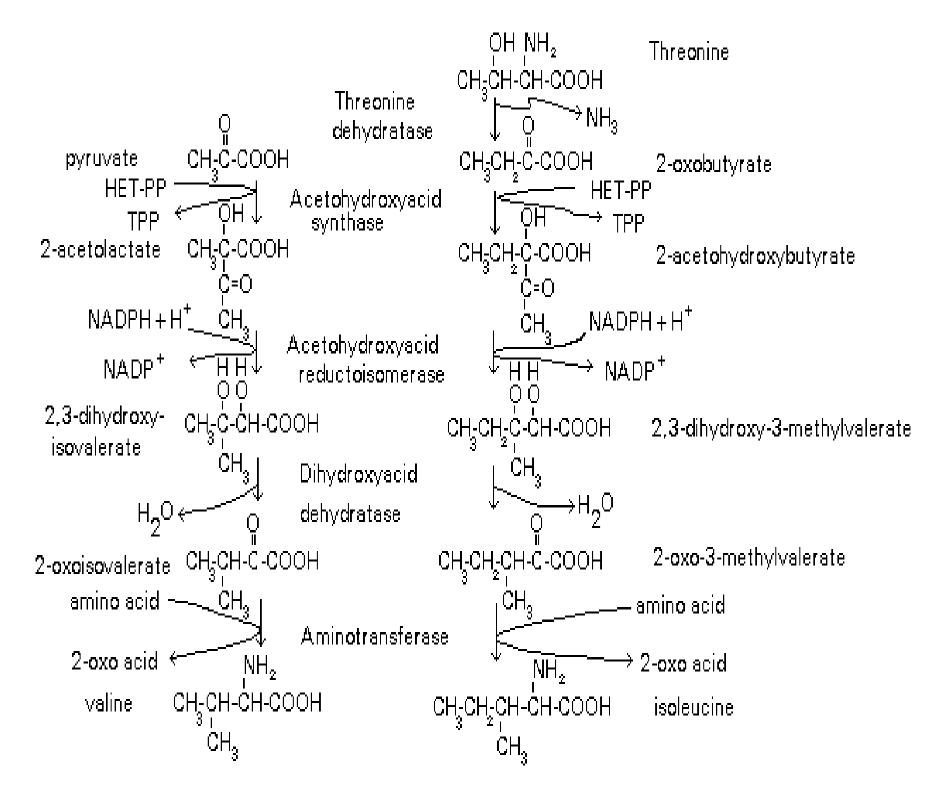
إنتاج حمض الفالين L-Valine production

أهمية حمض الفالين

- يحسن من أداء المخ.
- يساعد فى الشعور بالهدوء وقلة العصبية.

والفالين حمض أميني كثيرا ما درس من قبل العلماء في مجال الميكروبيولوجي ، حيث تم إنتاجه بواسطة الأحياء الدقيقة عام ١٩٦٠ م باستخدام السلالات *Enterobacter aerogenes,Enterobacter cloacae*، والتى تعتبر من السلالات ذات الإنتاجية العالية من حمض L-valine في البيئة ذات المكونات التالية :

جلوكوز ١٪ ، $MgSO_4$, $7H_2O$ ٠,٢٪ ، NH_4Cl ٠,٢٪ ، KH_2PO_4 ٠,٢٪ ، K_2HPO_4 ٠,١٪ ، $CaCO_3$ ٠,٥٪ و٠,١ جم/ لتر من كل من $MnSO_4$, $NaMoO_4$, $NiSO_4$ وتحضن عند درجة حرارة٣٠ ° م مع التهوية حيث أنتجت السلالات السابقة الذكر ١٣ جم من L-valine / لتر من البيئة الغذائية.



Valine and Isoleucine Biosynthesis

شكل (١٠-١٦): التخليق الحيوى لحمضى الفالين والأيزوليوسين

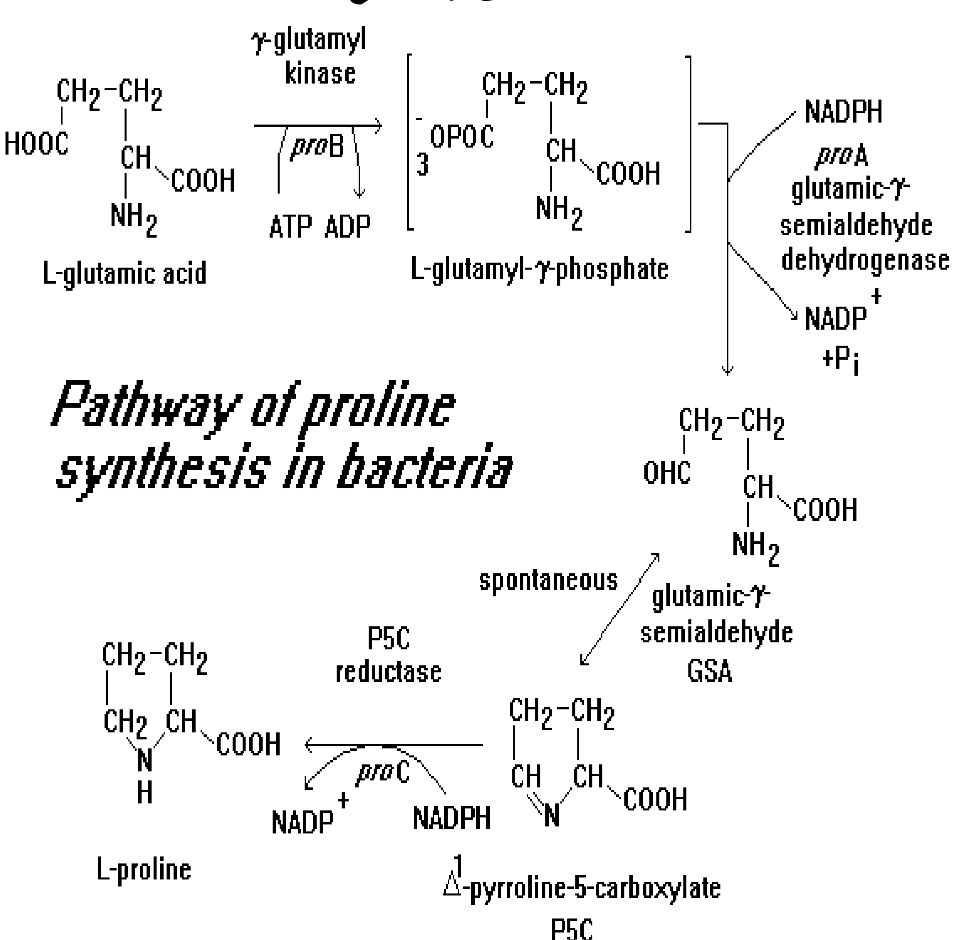
إنتاج حمض البرولين **Production of proline**

أهمية حمض البرولين

- **مهم جدا للمفاصل والأوتار.**
- **يساعد فى الشفاء السريع للجروح.**
- **يعمل على تقوية عضلة القلب.**

ويوجد عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة تنتج حمض البرولين ولكن يمكن القول بأن السلالة *Brevibacterium flavum* هى السلالة المتخصصة ذات الإنتاج العالى ، وبعد معاملة هذه السلالة بالعوامل الوراثية الفيزيائية كالأشعة فوق البنفسجية تم الحصول على السلالة المتحورة *B.flavum* ATCC 14 ,67 حيث أعطت إنتاجاً يقدر بـ ١١,٤ جم/لتر برولين عند درجة حرارة تحضين ٣١ °م لمدة ٧٢ ساعة على البيئة الغذائية التالية: جلوكوز ١٪، $(NH_4)_2SO_4$ ٥,٪.

KH_2PO_4 ١,٪، $7H_2O$, $MgSO_4$ ٤ ,٪،$CaCO_3$ ٥,٪، ببتون ٥,٪، – L isolysine ١٥ ,، ثيامين ٢٨,٪،ولقد أوضحت نتائج الدراسات أن تركيز الأيزوليوسين والبيوتين مهم لإنتاج البرولين ، فعند التركيز المنخفض تنتج السلالة حمض Palmatic ، ولكن عند التركيز العالى فإنها تنتج البرولين.



شكل (١٠-١٧): التخليق الحيوى لحمض البرولين

الفصل الحادي عشر

إنتاج المضادات الحيوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة

المضادات الحيوية عبارة عن مواد كيميائية تنتجها بعض الكائنات الحية الدقيقة أثناء نموها، هذه المواد ذات تأثير مضاد للميكروبات الممرضة للإنسان والحيوانات والنباتات، حيث أن المضادات الحيوية لها خاصية إيقاف نمو بعض الفطريات والبكتريا الممرضة وقتلها.

وكلمة مضاد حيوي تعنى ناتج أيض غذائي لأحد الكائنات الحية الدقيقة له تأثير قاتل **Cidal** أو موقف**Static** لنمو كائن أخر وبكميات صغيرة جدا وبمعنى اشمل فإن المضادات الحيوية عبارة عن مواد كيميائية عضوية تفرزها بعض الكائنات الحية الدقيقة كنواتج ثانوية لعمليات الأيض الغذائي وتستطيع بتركيزات ضئيلة قتل أو إيقاف نمو كائنات أخرى ممرضة، ومن المعروف جيداً أن المضادات الحيوية لها أهمية في علاج الأمراض الميكروبية **Microbial diseases**، حيث تستعمل كنوع من المواد الكيميائية العلاجية **Natural chemotherapeutic agents** .

ويرجع الفضل في اكتشاف المضادات الحيوية إلى العالم البريطاني **Alexander Fleming** عام ١٩٢٩م بجامعة لندن عندما لاحظ التضاد في احد تجاربه بين الفطر ***Penicillium notatum*** والبكتريا العنقودية ***Staphylococcus aureus***، حيث تمكن من التعرف على المادة المضادة التي أوقفت نمو البكتريا وهى البنسلين وهى كلمة اشتقها فلمنج من اسم الفطر المنتج للمادة المضادة ولم تتضح أهمية هذا الاكتشاف الهام إلا أثناء الحرب العالمية الثانية حيث تم إنقاذ أرواح الألاف من الجنود المصابين وبذلك بدأ عصر المضادات الحيوية بإنتاج البنسلين تجاريا عام١٩٤٢ م .

بعد اكتشاف البنسلين تمكن **Dubos** ومساعدوه عام ١٩٣٩ م من عزل بكتريا عصوية متجرثمة من التربة هي***Bacillus brevis*** قادرة على إنتاج مضاد حيوي وسماه **Gramicidin** والذى يؤثر على البكتريا الموجبة لصبغة جرام ، وعقب ذلك

اكتشف العالم Waksmanومساعدوه عام١٩٤٠م المضاد الحيوى الإستربتوميسين والذى يفرز بواسطة بعض أنواع من الأكتينوميسيتات والتى تنتمى إلى جنس *Streptomyces*، وتوالت بعد ذلك الاكتشافات وأمكن إنتاج الكثير من المضادات الحيوية باستخدام الميكروبات أو بطرق تخليقية وأمكن تحضير واستخلاص الكثير منها بحالة نقية.

وباستعمال المضادات الحيوية في العلاج فقد أصبح من السهل الأن علاج أمراض عديدة وخطيرة كان لها أثار قاتلة في الماضي مثل بكتريا السل والدفتريا والالتهابات الرئوية والبكتريا التى تسبب الأمراض المعوية كالتيفود والكوليرا والدوسنتاريا والأمراض التناسلية كالزهري والسيلان وغيرها من الأمراض ، ومن حسن الحظ فإن الكثير من الأنواع الميكروبية التي تنتج المضادات الحيوية توجد طبيعياً في التربة ويمكن عزلها بسهولة.

ولقد وجد أن حوالي٦٠ ٪ من المضادات الحيوية التي تم التعرف عليها حتى الأن تنتج بواسطة الأكتينوميسيتات(الأكتينوبكتريا) و١٠٪ بواسطة البكتريا و١٥٪ بواسطة الفطريات وكلها كائنات حية دقيقة تعيش في التربة، أما الباقي (حوالى١٥٪) فإنه ينتج من كائنات أخرى كالطحالب وبعض النباتات ، ولبعض الكائنات الحية الدقيقة القدرة على إنتاج أكثر من مضاد حيوي مثل بكتريا*Bacillus brevis* والتي تنتج Gramicidin and Tyrocidin وفطر*Aspergillus fumigatus*الذي ينتج Fumigatin, Fumigacin and Gliotoxin كما لوحظ أن المضاد الواحد قد ينتجه أكثر من ميكروب مثل البنسلين الذي ينتجه كلٍ من الفطريات الأتية:

Peni. notatum, Peni.chrysogenm,Aspergillus flavus.

والمضادات الحيوية وإن كانت غير ضرورية لحياة الخلية الميكروبية المنتجة لها إلا أنها ذات أهمية كبيرة في نواحي أخرى كالعلاج ، ولتعدد المصادر الميكروبية المنتجة للمضادات ولاختلاف طرق الأيض الغذائي فإن المضادات الحيوية تختلف في تركيبها الكيميائي ، وتعتبر البنسلينات والتتراسيكلينات من أكثر المضادات استعمالاً في الطب العلاجي ولذا فهي تشكل الإنتاج الأساسي العالمي من المضادات الحيوية ،

وتتميز البنسلينات بانخفاض سميتها لأن تأثيرها الفارماكولوجى يقتصر على منع تكوين جدر الخلية البكتيرية وليس لها تأثير على الخلايا الحيوانية ، أما تأثير التتراسيكلينات فيتركز في التداخل في أنظمة الخلية الحيوية ومنع تكوين بروتين خلية البكتريا ، ولها أيضاً نفس التأثير بتركيزات أعلى على بروتين الخلايا الحيوانية ولذلك تكثر أعراضها الجانبية عند استخدامها في العلاج بكميات كبيرة.

المضادات الحيوية كمواد علاجية كيميائية

نظرا لأهمية المضادات الحيوية العلاجية ونتيجة للبحوث المستمرة فى هذا المجال فلقد ظهر العديد من المضادات الحيوية وأمكن التعرف على ما يزيد عن ٦٠٠٠مضاد حيوى، حوالي ٢٥٠٠ منها تنتج بواسطة الكائنات الحية الدقيقة وأغلب هذه المضادات شديد السمية على الإنسان أو ضعيفة التأثير على الميكروبات ولذلك فهي لا تصلح للعلاج ولكن قد تصلح لأغراض أخرى ، والصالح للعلاج من تلك المضادات المكتشفة محدود لا يزيد عن٦٠ نوعاً .

جدول (١١-١): بعض المضادات الحيوية والميكروبات المنتجة لها.

الميكروب المنتج	المضاد الحيوى
Pseudomonas aeruginosa	**Pyocyanin**
Pseudomonas viscosa	**Viscosin**
Escherichia coli	**Coliformin**
Bacillus brevis	**Gramicidin**
Bacillus subtilis	**Subtilin**
Paenibacillus polymyxa	**Polymixin**
Streptomyces griseus	**Streptomycin**
Streptomyces aureofaciens	**Tetracyclin**
Streptomyces spheroides	**Novobiocin**
Streptomyces antibioticus	**Actinomycin**

Penicillin	*Penicillium chrysogenum*
Grisofulvin	*Penicillium griseofulvum*
Trichothecin	*Trichoderma roseum*
Chlorellin	*Chlorella vulgaris*

والمضادات إما أن يكون تأثيرها على الميكروبات قاتل مثل البنسلينات والإستربتوميسين خاصة في التركيزات العالية أو يكون تأثيرها موقف لنمو ونشاط الميكروبات، ويتجه البحث دائماً للكشف عن مضادات جديدة ذات فاعلية كبيرة ضد الميكروبات خاصة ضد تلك الميكروبات التي أصبحت لا تتأثر بالمضادات الحيوية التى تستخدم فى العلاج بكثرة نتيجة تكون طفرات ميكروبية مقاومة لفعل المضادات الحيوية المستخدمة.

الشروط الواجب توافرها في المضادات الحيوية المستخدمة كمواد علاجية

- أن يكون للمضاد الحيوى القدرة على قتل أو تثبيط الميكروب الممرض دون أن يضر بخلايا العائل.
- كلما كان المضاد ذو مجال ميكروبي متسع Broad– spectrum أي يؤثر على أنواع متعددة من الميكروبات (كالبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام والخمائر والفطريات والريكتسيا) كلما كان مضادا أفضل وكانت له قيمة علاجية أكبر.
- أن لا يتسبب المضاد الحيوى المستعمل في تكوين طفرات ميكروبية مقاومة للمضادات الحيوية.
- يجب أن لا يؤثر على الاتزان الميكروبي الموجود طبيعيا بالجسم.
- يجب أن لا يحدث تثبيط للمضاد الحيوى بأحماض المعدة عند تناوله.
- يجب أن لا يتحد المضاد الحيوى مع بروتينات الدم عند تناوله حقنا وأن يكون له درجه ذوبان عالية في سوائل الجسم.

ويراعى دائماً استعمال المضاد الحيوى بحرص وتحت إشراف طبي وبالجرعات المناسبة فلبعض المضادات أثار جانبية خطيرة كما يسبب بعضها مشاكل حساسية لبعض الأفراد وقد تتسبب في قتل الميكروفلورا النافعة الموجودة طبيعيا بالقناة الهضمية من بكتريا وفطر والتي تقوم بعضها بتجهيز الفيتامينات اللازمة للجسم ولذلك فإنه يلزم إعطاء المريض الذي يعالج بالمضادات الحيوية كمية كافية من الفيتامينات خاصة التابعة لمجموعة فيتامينات B المركبة.

وتقسم ميكانيكية عمل المضادات الحيوية في تثبيط البكتريا إلى ثلاثة أنواع أثناء استخدامها للعلاج كما يلى:

- **التأثير المثبطBacteriostatic :وهو أن يكون المضاد الحيوي قادر على تثبيط نمو وتكاثر البكتريا الممرضة دون أن يقتلها.**
- **التأثير القاتل(المبيد) Bactericidal : وهو أن يكون المضاد الحيوي قادر على قتل البكتريا.**
- **التأثير المحلل Lysis: حيث يكون المضاد الحيوى قادرا على قتل وتحليل وتمزيق الخلية البكتيرية.**

أنواع المضادات الحيوية

١-البنسلينات (مجموعة بيتا لاكتام)

اكتشف البنسلين عام ١٩٢٩م بواسطة العالم البريطاني فلمنج وهو بذلك يعتبر من أوائل المضادات الحيوية التي اكتشف ومازال أكثرها استعمالاً ،والبنسيلينات Penicillins هي مجموعة من المركبات ذات تركيب متشابه وإن كانت ذات أنشطة مختلفة ومن الناحية الكيميائية فإن البنسلينات تتبع مجموعة البيتا لاكتام B-lactam antibiotics ولجميع البنسلينات نواة مشتركة Common core وهى حلقة B- lactam thiazolidine ring ولها سلاسل جانبية مختلفة تعطى لكل نوع من أنواع البنسلين خواصه ومميزاته.

البنسلينات الطبيعية

تنتج البنسلينات الطبيعية أثناء نمو ونشاط الفطر ***P,notatum*** وينتج بالمزرعة الفطرية حوالي ٦ أنواع من البنسلينات ذات الأساس الكيميائي المتشابه ومن أهم هذه البنسلينات**F, K, V &X** **Penicillin G (Benzyl penicillin)** ويعتبر بنسلين **G**أكثرها انتشارا واستعمالاً.

ويمكن تحضير البنسلينات الطبيعية كأملاح صوديوم أو بوتاسيوم وكان تحضير البنسلينات في البداية يتم في صورة غير نقية ولكن بتقدم تقنيات الإنتاج أصبح من الممكن الحصول علي البنسلينات بصور نقية كما تم معرفة رمزها الكيميائي، وبذلك استعملت الوحدة الوزنية بدلا من وحدة أكسفورد لتقدير قوة البنسلين.

ووحدة أكسفورد **Oxford** هي كمية البنسلين الموجودة في واحد مللى لتر والتي توقف في دائرة قطرها ٢٤مم نمو بكتريا ***Staphylococcus aureus*** النامية على بيئة الأجار المغذى بعد ٢٤ ساعة من التحضين على درجة ٣٧ °م ، وتساوى وحدة أكسفورد في نشاطها التأثير الناتج من استعمال٠,٦ ميكروجرام بنسلين نقى (بنسلين **Benzyl penicillin G**) وتسمى هذه الوحدة الوزنية بالوحدة الدولية **International unit**وهى تماثل تماماً وحدة أكسفورد في جميع الاستعمالات ولذلك تستخدم الأن الوحدات الدولية بدلاً من وحدة أكسفورد.

وتؤثر البنسلينات الطبيعية بصفة عامة على البكتريا الموجبة لصبغة جرام خاصة **Pneumococci and Clostridia**، وتؤثر البنسلينات أيضاً على بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة جرام مثل ***Neisseria*** المسببة للسيلان وبكتريا الالتهاب السحائى والسبيروكيتا المسببة للزهرى، ولا يؤثر البنسلين عادة على البكتريا السالبة لصبغة جرام والريكتسيا والخمائر والفطريات والبروتوزوا لأن مجال تأثيره الأساسي هو طبقة الميورين الموجودة في جدار البكتريا الموجبة لجرام فقط، ويحدث تثبيط للبنسلينات الطبيعية بواسطة الحرارة ، والأحماض الأمينية الكبريتية وهيدروكسيد الصوديوم وحمض الهيدركلوريك الموجود بالمعدة وإنزيم البنسلينيز **penicillinase** الذي تفرزه بعض الميكروبات كالبكتريا والفطر.

والبنسلينيز البكتيرى يحلل البنسلين G بكسر رابطة البيتا لاكتام لذلك يسمى بيتا لاكتاميز B-lactamase أما إنزيم البنسلين الفطري فإنه يحلل بنسلين V بكسره لرابطة الببتيد ولذلك يسمى أميديز Penicillin amidase.

شكل (١١-١):البنسلين من النوعG

البنسليناات نصف المخلقة

أمكن بتفاعلات كيميائية مناسبة إضافة سلاسل جانبية مخلقة كيميائياً لنواة البنسلين المنتجة طبيعيا من الفطر وتسمى المواد الناتجة بالبنسلينات نصف المخلقة ومن أهم هذه البنسلينات الأمبيسلين Ampeicillin وهو يستعمل بكفاءة ضد مجموعة كبيرة من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة لجرام وإن كان يعاب عليه تأثره بالحموضة وبإنزيم البنسلينيز كما أنه يسبب حساسية شديدة لبعض الأفراد قد تصل للموت .

طريقة عمل وتأثير البنسلينات

يمنع البنسلين تكون الجدار الخلوي الصلب للبكتريا التي في طور النمو والتكوين بإيقاف ارتباط حمض الأسيتيل ميوراميك مع أسيتايل جلوكوز أمين وهى المكونات الأساسية الداخلة في تكوين طبقة الميورين الخاصة بجدار خلية البكتريا ولا يوجد هذا التركيب إلا في الكائنات بدائية النواة كالبكتريا ويعنى هذا أن البنسلين يؤثر فقط على خلايا البكتريا ، ونتيجة لفقد البكتريا لجدارها الخلوي وهى فى طور النمو والتكوين تأخذ أشكالا غير طبيعية ويحدث بها استطالة وتكوين أشكال من نوع L-form ويتوقف الانقسام الخلوي وتتأثر نفاذية الخلية وأخيرا تتحلل الخلايا وتموت

، ويتوقف مقاومة البكتريا للبنسلين على إنتاجها لإنزيم البنسلينيز الذي يحلل البنسلين، وبالإضافة إلى استعمال البنسلين في الأغراض العلاجية فقد يستخدم أيضاً في المعامل الميكروبيولوجية لعزل الأنواع البكتيرية المقاومة للبنسلين مثل البكتريا السالبة لصبغة جرام والبكتريا المسببة للسعال الديكى والأنفلونزا كما يستعمل البنسلين لإيقاف نمو البكتريا في الأنسجة الحيوانية المستعملة لدراسة الفيروسات لأن معظم الفيروسات والخلايا الحيوانية مقاومة لأغلب المضادات الحيوية.

٢-الإستربتوميسين

ينتج الإستربتوميسين بواسطة ميكروب*Streptomyces griseus* وهو من بكتريا التربة ومن الناحية الكيميائية ينتمي الإستربتوميسين لمجموعة الأمينوجليكوسيدات **Aminoglycoside antibiotics** وهى مركبات تحتوى على سكريات أمينية مرتبطة بروابط جليكوسيدية وينتمي إلى هذه المجموعة بعض المضادات مثل **Kanamycin, Neomycin and Streptomycin**، يؤثر الإستربتوميسين على كثير من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام وإن كان قد قل استعماله في علاج بكتريا السل لسرعة تكوين بكتريا السل لسلالات مقاومة للإستربتوميسين.

طريقة عمل وتأثير الإستربتوميسين

يؤثر الإستربتوميسين ومجموعة مضادات الأمينوجليكوسيدات على تمثيل الأحماض الأمينية ومن ثم يثبط تكوين البروتينات وتخليقها، ويتم ذلك باتحاد الإستربتوميسين بوحدات الريبوسوم التي بالخلية فيتوقف انتقال الأحماض الأمينية بواسطة الحمض النووى **RNA** الناقل **Transfer amion acyl RNA** إلى وحدات البروتين الجاري تكوينها بالريبوسوم، كما أن هذه المجموعة من المضادات تؤثر على دورة كربس بتأثيرها على الإنزيمات الخاصة بارتباط حمض البيروفيك مع حمض الأكسالوأسيتيك فيتوقف تكوين حمض الستريك ولا تكتمل الدورة الخاصة بالتنفس، ولقد أمكن تحضير الإستربتوميسين بحالة نقية والوحدة الدولية **IU** للاستربتوميسين

هي الوحدة التي تساوى في نشاطها التأثير الناتج من استعمال واحد ميكروجرام إستربتوميسين نقى.

streptomycin (aminoglycoside)

شكل (١١-٢): التركيب الكيميائى للإستربتوميسين

٣- التتراسيكلينات

ينتمي إلى مجموعة التتراسيكلينات

Tetracycline (Achromycin),Chlortetracycline(Aureomycin) ,and oxytetracycline (Terramycin)

وهذه المضادات وإن كانت ذات صفات بيولوجية متشابهة إلا أنها تختلف عن بعضها في مدى ثباتها وسميتها وفى تفاعلها مع بروتينات الجسم، وتنتج التتراسيكلينات بواسطة بكتريا تابعة لجنس ***Streptomyces*** وتمتاز هذه المجموعة من المضادات بأنها ذات مجال ميكروبي متسع حيث تؤثر على كثير من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام.

طريقة عمل التتراسيكلينات Mode of action of tetracyclines

تؤثر التتراسيكلينات على تمثيل الأحماض الأمينية والبروتينات بإيقاف ارتباط الـ RNA الناقل بالريبوسوم أثناء تكوين واستطالة السلسلة الببتيدية ، والوحدة الدولية للتتراسيكلين هي الوحدة التي تساوى في نشاطها التأثير الناتج من استعمال واحد ميكروجرام كلوريد التتراسيكلين.

التركيب العام للسايكلينات ، ومواقع الاستبدال W, X, Y, Z على جزىء السايكلين

شكل (١١-٣):التركيب الكيميائى للتتراسيكلين

يحضر التتراسيكلين الأن بطرق كيميائية أخرى غير مجموعة التتراسيكلين التى تنتج بواسطة الكائنات الحية الدقيقة ، إلا أن كلا المركبين يمتازان بأنهما من الأنواع ذات المجال الميكروبي المتسع.

٤-البوليمكسين (مجموعة عديد الببتيدات)

تنتج البكتريا التابعة لجنس ***Bacillus*** مجموعة متعددة من المضادات الحيوية ذات خصائص عامة متشابهة وتنتمي كيميائياً لمجموعة عديدة من الببتيدات **Polypeptide antibiotics** فينتج البوليمكسين بواسطة ***Paenibacillus polymyxa*** وينتج الباسيتراسين والسابتلين بواسطة ***B. subtilis*** والجراميسيدين بواسطة ***B.brevis*** ، يؤثر البوليمكسين على كثيرا من البكتريا السالبة لصبغة جرام بما في ذلك بكتريا ***Pseudomonas aeruginosa*** التي كثيرا ما تسبب التهابات المجارى البولية أما الباسيتراسين فإنه يؤثر على البكتريا الموجبة لصبغة جرام ولا يؤثر على السالبة لجرام وهو شديد السمية ويجب أن يستعمل بحرص شديد.

طريقة عمل وتأثير البوليمكسين

يوقف هذا المضاد الحيوى عمليات الأيض الخاصة بتكوين جدار الخلية ، كما أنه يتحد بالغشاء السيتوبلازمى ويفقده خاصية النفاذية الاختيارية ، والبعض الأخر منها مثل الـ **Gramicidin** يثبط عملية الفسفرة التأكسدية **Oxidative phosphorylation** الخاصة بإنتاج الطاقة .

ميكانيكيات إنتاج المضادات الحيوية

منذ أن بدأت محاولات الإنتاج التخميرى للمضادات الحيوية بإنتاج البنسلين في أوائل الأربعينات من القرن الماضي ، فقد أخذت تكنولوجيا التخمرات في التطور المستمر وبشكل سريع ، وقد شمل ذلك التطور تحسين البيئات المزرعية وتقدم طرق عزل وانتخاب السلالات الميكروبية المناسبة، وتطور طرق التخمير باستخدام المزارع المغمورة ، وإنتاج أجهزة التخمير المزودة بكل وسائل التحكم ، وتطور طرق استخلاص وتنقية نواتج التخمر، ونتيجة لهذا التطور في تكنولوجيا التخمرات ، فقد تزايد إنتاج البنسلين كمثال لإنتاج المضادات من ٨٠١ كجم عام ١٩٤٣م إلى حوالي١٠ ألاف طن عام ١٩٨٢ م في بلد واحد كالولايات المتحدة ، وبفضل هذا التطور فقد أصبحت الصناعات التخميرية الدوائية ذات أسس ثابتة ومستقرة ولا يحتمل أن تتأثر بالإنتاج التخليقى لمنتجاتها ، كما حدث لصناعات تخميرية أخرى مثل إنتاج الأسيتون ، البيوتانول ، وحمض الأسيتيك ، وكحول الإيثانول، وتعتمد اقتصاديات الإنتاج على استعمال مخمرات لا تقل سعتها عن ١٠٠م٣ مزودة بألات تحكم بالغة الدقة مع استخدام أجهزة استخلاص عالية الكفاءة.

المراحل الرئيسية لإنتاج المضادات الحيوية

المرحلةالأولى: تجهيز بيئة الإنتاج

يتم تحضير البيئة المناسبة للميكروب المنتج للمضاد الحيوي وتعقم ثم تترك لتبرد ويتم ضخها في وعاء التخمير.

المرحلة الثانية : إعداد اللقاح

تنقل النموات الميكروبية (فطر أو بكتريا) من المزرعة النقية على الأجار المائل إلى دورق زجاجي يحتوى علي بيئة مناسبة ومعقمة ، وبعد نمو الميكروب على البيئة يتم تكوين معلق للجراثيم الذى ينقل إلى وعاء يحتوى على بيئة معقمة ويستعمل بعد ذلك لتلقيح وعاء التخمير التجاري.

المرحلة الثالثة : مرحلة التخمر Fermentation stage

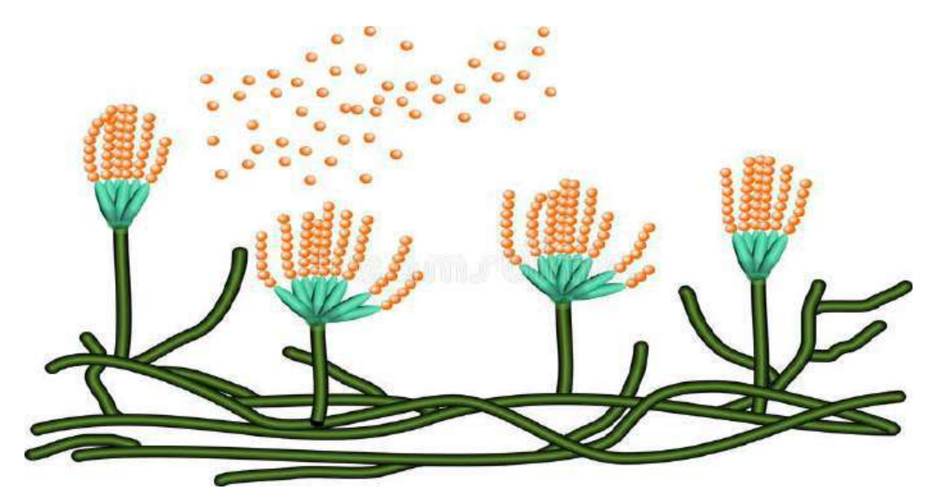
يحتوى وعاء التخمر على البيئة السابق تجهيزها ، ثم يتم التلقيح بالبيئة السابق إعدادها في المرحلة السابقة التي نما فيها الميكروب ، بعد ذلك يدفع هواء معقم في وعاء التخمر خلال هذه المرحلة.

المرحلة الرابعة : الحصول على المضاد الحيوي

بعد الوصول إلى أقصى كمية ممكنة من المضاد الحيوي تم تكوينها بفعل الميكروب ، تزال النموات الميكروبية عن طريق الترشيح ، ثم يستخلص المضاد الحيوي في صورة نقية عن طريق سلسلة متتابعة من عمليات الاستخلاص تشمل الترسيب وإعادة الإذابة والترشيح والتنقية.

إنتاج البنسلين

إنه حقاً لمن حظ البشرية تلك الملاحظة التى لاحظها العالم الكسندر فلمنج فى مستشفى سانت مارى بلندن سنة ١٩٢٩ م وهى إنتاج مضاد حيوى بواسطة مزرعة ملوثة بفطر *Penicillium notatum* حيث اكتشف أن راشح مزارع هذا الفطر المحتوى على هذا المضاد الحيوى له تأثير مضاد للبكتريا الكروية ذات الشكل العنقودى *Staph.aureus* الممرضة وذو سمية منخفضة للثدييات ، وأطلق فلمنج على هذه المادة المضادة للبكتريا اسم بنسلين ، ولقد حاول فلمنج عزل هذا المضاد الحيوى من راشح مزارع فطر *Penicillium notatum* إلا أنه فشل فى محاولاته ، وفى سنة ١٩٣٨م بدأ Chain دراساته على البنسلين حيث توقع أن هذه المادة المضادة للبكتريا ما هى إلا إنزيم ، وبعد مرور اثنا عشر عاماً من اكتشاف فلمنج تمكن Florey and Chain سنة ١٩٤٠ م من عزل مركب البنسلين من مزرعة سطحية للفطر *Penicillium notatum* النامى على بيئة بسيطة وكانت الغالبية العظمى من البنسلين المنتج من النوع F الذى اتضح أن له وزن جزيئى منخفض مقارنة بالإنزيمات.



شكل (١١-٤): فطر *Penicillium notatum*

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Eurotiomycetes

Order:Eurotiales

Family:Trichocomaceae

Genus:*Penicillium*

Species

Penicillium chrysogenum ***Penicillium notatum***

P.brevicompactum ***P.corylophilum***

P.steckii ***P. turbatum***

ولقد عرفت خصائص هذا الفطر المضادة للبكتريا منذ زمن بعيد وقبل اكتشاف فلمنج لها ، فقد كانت قبائل الهنود الحمر تستخدم هذا الفطر النامى على حبوب الذرة لمعالجة الجروح، كما قد أوصى ابن سينا فى كتابه "القانون فى الطب" باستخدام هذا الفطر لعلاج التقيحات ، وفى سنة ١٩٤١م تم اكتشاف التأثير النافع لمنقوع الذرة على إنتاج المضاد الحيوى ، حيث وجد أن مادة β-phenyl

ethylamine الموجودة فى منقوع الذرة جعلت التخمير يتجه نحو إنتاج بنسلين G والذى مازال أكثر أنواع البنسلين إنتاجاً واستخداماً من الناحية التجارية.

وبمجرد معرفة خصائص البنسلين المضادة للبكتريا بدأ العلماء فى دراسات مكثفة للبحث عن الكائنات المنتجة لهذا المستحضر الطبى الهام ، ونتيجة هذه الأبحاث وجد أن عديد من أنواع فطر البنسيليوم تستطيع إنتاجه مثل *Penicillium chrysogenum, , P.brevicompactum, P.corylophilum , P.steckii, P. turbatum* كما ينتج البنسلين أيضاً بواسطة بعض أنواع جنس *Aspergillus* مثل *A.flavus , A. favipes , A.janus, A. nidulans* ، كما وجد أيضاً أن بعض الكائنات الحية الدقيقة المحبة للحرارة المرتفعة مثل *Malbranchia pulchella* لها القدرة على تخليق البنسلين.

وبعد ذلك حدث تطور كبير فى استخدام سلالات مطفرة من *Penicillium chrysogenum* فى إنتاج البنسلين وتطورت أيضاً تكنولوجيا استخدام المزرعة المغمورة فى إنتاج المضادات الحيوية بدلاً من المزرعة السطحية وهذه العوامل أدت إلى إنشاء فرع واسع فى الصناعات الدوائية أسفر عن إنتاج أنواع كثيرة من المضادات الحيوية.

والبنسلين مضاد حيوي من مجموعة β-lactam وهذه المجموعة من المضادات الحيوية يمكن الحصول عليها ليس فقط من الفطريات ولكن تنتج أيضاً بواسطة بعض الأكتينوميسيتات (الأكتينوبكتريا) والبكتريا ، وعموماً فإن اكتشاف البنسلين يعد نقطة تحول هامة فى تطور علم الميكروبيولوجيا الطبية والكيمياء والطب ، ولقد وجد بعد ذلك أن إضافة بعض المواد الخاصة مثل Phenyl acetic acid إلى بيئة التخمير ينتج عنها تفرع فى السلسلة الجانبية للبنسلين وبذلك أمكن إنتاج ٤٠ نوع جديد من البنسلين حسب هذه المواد الخاصة والتى تسمى المواد الممهدة لتكوين السلسلة الجانبية للبنسلين Precursors.

ولقد كان إنتاج أول سلالة من ال *Penicillium* تم عزلها من مصادرها الطبيعية من البنسلين لا يزيد عن ٢٠ وحدة (١٢ ميكروجرام) بنسلين / مل من راشح المزارع ، وعندما بدأ إنتاج البنسلين على نطاق صناعى كان الإنتاج لا يزيد عن ٥٠ وحدة (٣٠ميكروجرام) / مل من راشح المزارع ، أما الأن فإن إنتاج البنسلين يزيد عن ١٥٠٠٠ وحدة/ مل من راشح المزارع وبعض السلالات يمكنها إنتاج ٢٥٠٠٠ وحدة/ مل ، حيث أمكن زيادة الإنتاج عن طريق دراسة وتحديد الظروف المثلى للإنتاج وانتخاب السلالات ذات الكفاءة العالية.

المواد الممهدة Precursors لتخليق السلسلة الجانبية للبنسلين

ينمو فطر *Penicillium chrysogenum* وينتج بنسلينات متنوعة حيث تختلف عن بعضها فى تركيب السلسلة الجانبية فى جزيئاتها، وهناك دور هام للمواد الممهدة Precursors فى التخليق الحيوى للبنسلين، وهذه المواد الممهدة هى مواد عضوية تعمل كنقطة بداية لتخليق السلسلة الجانبية للمضاد الحيوى وتشجع الفطر على الإنتاج ، أى أن المادة الممهدة التى تضاف للبيئة هى التى تحدد نوع البنسلين الناتج لأن اختلاف أنواع البنسلين يرجع إلى الاختلاف فى تركيب السلسلة الجانبية المتصلة بنواة البنسلين، وقد وجد أن هناك حوالى ٤٠ نوع من البنسلين أمكن الحصول عليهم من فطر *Penicillium chrysogenum* بإضافة مواد ممهدة مختلفة إلى البيئة ، والمواد الممهدة لتكوين السلسلة الجانبية غير متخصصة نسبياً ولكن جميعها تحتوى على المجموعة الطرفية $-CH_2COOH$ لأن وجود هذه المجموعة يجعل المواد الممهدة التى تضاف للبيئة ليست سامة للفطر الذى يقوم بعملية الإنتاج كما يجعل المواد الممهدة مقاومة للأكسدة فى بيئة التخمر.

وللتأكد من عدم سمية المواد الممهدة فقد تضاف بكميات صغيرة على دفعات متعددة ، كما قد تضاف المادة الممهدة فى صورة كامنة والتى تتحول ببطء إلى الصورة النشطة وكمثال لذلك تضاف مادة β-phenyl ethylamine التى تتأكسد لتعطى Phenyl acetic acid وهى المادة الممهدة لتكوين السلسلة الجانبية لبنسلين G ، ولذلك فإن وجود مادة β-Phenyl ethylamine فى بيئة

منقوع الذرة يؤدى إلى إنتاج بنسلين G ، حيث تتحول إلى المادة الممهدة لهذا النوع من البنسلين ، ويعتبر Phenyl acetic acid ومشتقاته أكثر المواد الممهدة شيوعاً فى إنتاج البنسلين ، ولقد وجد أنه عند زراعة الفطر على بيئة لا تحتوى على هذه المادة الممهدة فيكون المحصول الناتج محتوى على ٤٥٪ بنسلين G ، ٥٣٪ بنسلينK ،وبتقدم عمر المزرعة يزداد إنتاج بنسلين K حتى يصل إلى ٧٠ ٪ ولكن عند إضافة مشتقات Phenyl acetic acidإلى بيئة التخمر يزداد إنتاج بنسلين G وتتوقف كمية بنسلين G على عمر الميسيليوم فقد تصل إلى ٧٥-٩٩٪ فى خليط البنسلينات المتكونة، وتختلف كمية المادة الممهدة المضافة إلى البيئة باختلاف سلالة الفطر ولكن تتراوح كميتها بصفة عامة من ٠,١-١٪.

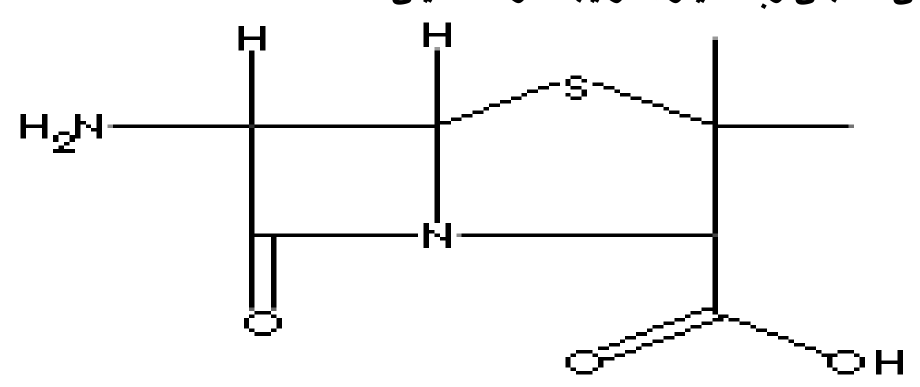
ولقد وجد أن إضافة Phenoxy acetic acid إلى البيئة الصناعية بتركيز ٠,١٪ يشجع الفطر *Penicillium chrysogenum*لإنتاج بنسلين V فى حين أنه إذا نمى الفطر على بيئة محتوية على منقوع الذرة بالإضافة إلى Phenoxy acetic acid فإن الفطر ينتج أنواع أخرى من البنسلين بالإضافة إلى بنسلين V حيث يبلغ تركيز البنسلينات الأخرى حوالى ٢٥٪ من البنسلينات الكلية المتكونة، ونتيجة التخمر تتراكم أكبر كمية من البنسلين فى البيئة ويحتجز قدر ضئيل جداً فى الميسيليوم وجدر الخلايا .

نواة البنسلين

تشترك كل أنواع البنسلين المختلفة فى احتواء جميعها على ما يسمى نواة البنسلين وهى 6-aminopencillanic acid حيث وجد أن استبعاد المواد الممهدة لتكوين السلسلة الجانبية لبنسلين G من بيئة تخمر البنسلين يؤدى إلى تراكم 6-aminopenicillanic acid فى البيئة المتخمرة ، حيث يكون إنتاج هذه المادة مثالى عندما تكون كمية الهواء الذى يدخل إلى البيئة أقل من الكمية المطلوبة لإنتاج الحد الأقصى من بنسلين G ولذلك فإن إنتاج البنسلين بالتخمير المباشر للمادة الأولية يتطلب تنظيم ظروف التخمير بدرجة عالية جداً بحيث تناسب كل مرحلة من مراحل التخمر، أى أن المنِتج يجب أن يكون على دراية بالمرحلة التى

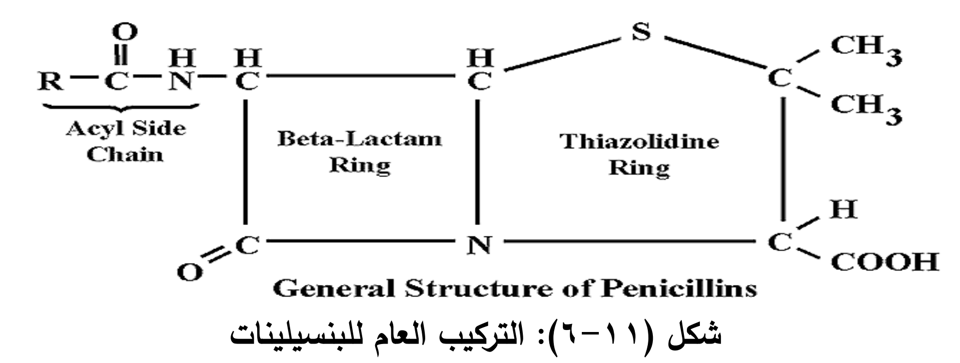
تتخلق فيها النواة فيقلل التهوية إلى حد ما ثم يتم زيادتها إلى حدها الأقصى فى مرحلة الربط بين مكونات البنسلين.

وبعد عدد كبير من التجارب يمكن القول أن نواة البنسلين تتكون من نواتين حلقيتين ، ويمكن القول أن الفطر ***Penicillium chrysogenum*** يستخدم الحمض الأمينى **L-cystine** كناتج وسطى فى التخليق الحيوى كجزء أساسى من الأنوية الحلقية المكونة للنواة ، كما وجد أيضاً أن الفطر يستخدم الحمض الأمينى **L-valine** مباشرة كوحدة بنائية للجزء المتبقى من النواة حيث يقوم الفطر باستخدام سلسلة كربون وذرة نيتروجين هذا الحمض الأمينى دون أى تغيير فى تكوين الجزء الحلقى المتبقى وبذلك يكون تركيب النواة كما يلى:



شكل (١١-٥): **6-aminopencillanic acid**

ولقد وجد أنه فى حالة عدم وجود **Phenyl acetic acid** فى بيئة التخمر وهى المادة الممهدة لتكوين السلسلة الجانبية لبنسلين **G** ، تتراكم المركبات المحتوية على كبريت مثل الحمض الأمينى **Cystine** فى راشح المزارع أثناء نمو الفطر ***Penicillium chrysogenum*** ولكن عند إضافة **Phenyl acetic acid** للبيئة ينشط تحول المركبات المحتوية على كبريت إلى تكوين نواة البنسلين ، ولكى يكتمل تكوين البنسلين فلابد أن يرتبط المركب الحلقى الناتج من الحمض الأمينى **L-cystine** مع الحمض الأمينى **L-valine** لتكوين النواة ثم ترتبط النواة مع السلسة الجانبية.



شكل (١١-٦): التركيب العام للبنسيلينات

والرابطة الأميدية التى تربط بين نواة البنسلين 6-aminopenicillanic acid والسلسلة الجانبية قابلة للتحلل بواسطة إنزيم Penicillin amidase، ولقد وجد أن هناك أنواع مختلفة من الكائنات الحية الدقيقة تنتج هذا الإنزيم وهذه الكائنات الحية الدقيقة تشمل:

Penicillium chrysogenum, Streptomyces lavendulae ,Alcaligenes faecalis.

ويوجد نوعين من هذا الإنزيم يختلفان فى نوع مادة البنسلين التى يتم تحليلها ، فالنوع الأول الذى تنتجه الفطريات والأكتينوميسيتات يمكنه أن يحلل بنسلين V بدرجة أسرع من تحليله لبنسلين G أما النوع الثانى الذى تنتجه البكتريا فيقوم بتحليل بنسلين G بدرجة سريعة جداً فى حين يهاجم بنسلين V ببطئ ، وبصفة عامة فقد وجد أن نشاط هذا الإنزيم فى تحليل البنسلين يزداد عندما تكون درجة الـ pH مرتفعة .

Penicillin Structure	R Group	Drug Name
R—C(=O)—N(H)—C(H)—C(H)—S—C(CH3)(CH3)—C(H)—N—C(=O); C(=O)OH; Lactam ring	$-CH_2-$ (benzene ring)	penicillin G
	CH_2-O- (benzene ring)	penicillin V
	$-CH-$ (benzene ring), NH_2	ampicillin
	$-CH-$ (benzene ring) $-OH$, NH_2	amoxicillin
	CH_3O, CH_3O (benzene ring)	methicillin

شكل (١١-٧) الأنواع المختلفة من البنسيلينات

L-α-Aminoadipic acid   L-Cysteine   L-Valine

acvA pcbAB ⟹ ACVS

δ-(L-α-Aminoadipyl)-L-cysteinyl-D-valine

ipnA pcbC ⟹ IPNS

Isopenicillin N

acyA penDE ⟹ AAT   Phenylacetyl-CoA

L-α-Aminoadipic acid, CoA

Penicillin G

شكل (١١-٨): خطوات التخليق الحيوى ل Penicillin G

البنسيلينات المخلقة جزئياً

يستخدم إنزيم Penicillin amidase الذى تنتجه البكتريا فى تحليل بنسلين G وذلك بغرض الإنتاج التجارى لمادة 6-aminopenicillanic acid ، وهذه المادة تستخدم فى التخليق الكيميائى لعدة أنواع جديدة من البنسلين ، وتوجد بعض أنواع من هذه البنسلينات لها مميزات علاجية بالمقارنة ببنسلين G، ويتم تخليق هذه الأنواع من البنسلين بشكل تجارى عن طريق إذابة مركب 6-aminopenicillanic acid فى ٣٪ وزن/ حجم محلول بيكربونات الصوديوم محتوية على ٣٪ حجم/ حجم أسيتون ثم يضاف كلوريد الأسيل Acyl chloride ببطء مع التقليب المستمر حتى تتكون السلسلة الجانبية، ويستمر هذا التفاعل لمدة ٢٠ دقيقة ويزال الفائض من كلوريد الأسيل بواسطة الاستخلاص بالمذيب المناسب وبعد ذلك يتم تحميض خليط التفاعل ويستخلص البنسلين الموجود بالمذيب ثم ينقى.

جدول(١١-٢):المميزات العلاجية لبعض أنواع البنسلين المخلقة جزئياً.

البنسلين الجديد	المميزات العلاجية
Methicillin	مقاوم لإنزيم البنسيلينيز
Cloxacillin	مقاوم لإنزيم البنسلينيز ومقاوم للحمض
Phenethicillin	مقاوم للحمض ومناسب للتناول عن طريق الفم
Penicillin V	مقاوم للحمض ومناسب للتناول عن طريق الفم
Ampicillin	شديد الفعالية ضد العصويات السالبة لجرام

عملية الإنتاج

تم إنتاج البنسلين فى البداية بتنمية الفطر المنتج فى أوعية زجاجية تحتوى على بيئة سائلة ، وكان المحصول الناتج منخفض جداً ولذلك كانت تكلفة إنتاجه عالية ، فعلى سبيل المثال كانت تكلفة إنتاج ١ كجم من البنسلين فى الولايات المتحدة الأمريكية سنة ١٩٤٣م مرتفعة جدا حيث تتجاوز التكلفة آلاف الدولارات ، ونتيجة للدراسات العلمية لمعرفة الظروف المثلى لنمو الفطر ولمحاولة زيادة إنتاجه انخفضت تكلفة إنتاج ١ كجم من البنسلين إلى ١٦٩ دولار أمريكى سنة ١٩٥٣م,

وأول بيئة استخدمت فى الإنتاج بواسطة الفطر المنتج للبنسلين والتى اقترحها Coghill و Moyer سنة ١٩٤٦ م احتوت على منقوع الذرة ، لاكتوز ، نترات صوديوم ، جلوكوز وفوسفات بوتاسيوم وأملاح أخرى، وتم تعديل هذه البيئة فيما بعد واستخدمت فى مصانع إنتاج البنسلين كما يلى:

٢٠ جم منقوع ذرة (مادة جافة)، ٤٠ جم جلوكوز ، ٠,٥ جم فوسفات أحادى البوتاسيوم ، ٣ جم نترات صوديوم، ١٢٥ , جم كبريتات ماغنسيوم ، ٥ جم كربونات كالسيوم، ١٠٠٠ مللى لتر ماء حنفية ، أما درجة الـ pH للبيئة بعد التعقيم فيجب أن تكون ٦ – ٦,٢.

أما الأن فتستخدم طفرات من الفطر *Penicillium chrysogenum* مع منقوع الذرة كمصدر للنيتروجين لإنتاج أنواع البنسلين المختلفة وأغلبها بنسلين G

فى حالـة التخمـر المباشر للبيئـة، والبيئـة الشائعة الاستخدام فـى الإنتـاج الصناعى للبنسـلين تتركـب مـن المكونـات الأتيـة محسـوبة كنسـبة مئويـة :٣,٠منقـوع الـذرة ٥,٠،لاكتــوز، ١٢٥, نتــرات أمونيــوم ،٥ ٠٠ , كبريتـــات صـــوديوم مائيـــة ، ٢٥ ,٠،كبريتات ماغنسيوم مائية،٢ ٠٠ , كبريتات منجنيز مائية،٢ ٠٠ ,كبريتات زنك ،٢ ٠, فوسفات أحادى البوتاسيوم،٣ ٠, كربونات كالسيوم ، Phenylacetic acid١ ٠, – زيت نباتى أو حيوانى٢ ٠,وفى بعض الأحيان قد يستخدم دقيق الفول السودانى أو دقيق بذور القطن أو دقيق عباد الشمس ومواد نباتية أخرى كبديل لمنقوع الذرة.

ولتنمية اللقاح تلقح بيئة اللقاح بمعلق من كونيديا الفطر (١,٥٪ حجم/حجم) ويضاف للبيئة ٢,٥٪ وزن/حجم كلوريد كالسيوم كمنشط للتجرثم فى المرحلة الأولى من تنمية اللقاح .

وفى المرحلة الثانية يتم نقل ١٠٪ حجم/حجم من اللقاح النامى إلى بيئة طازجة حتى يتم الحصول على كمية كافية من اللقاح، وينتج البنسلين بالتخمر باستخدام طريقة الدفعة الواحدةBatch fermentation حيث ينقسم التخمر إلى ثلاثة مراحل :

المرحلة الأولى وهى مرحلة النمو حيث يحدث نمو سريع للفطر وتنطلق الأمونيا فى البيئة نتيجة مهاجمة المركبات النيتروجينية ويرتفع الـ pH بشدة إلى حوالى ٧,٥ ويلى ذلك مرحلة النضج التى تبدأ بعد حوالى ٤٨-٦٠ ساعة أى عندما تنتهى مرحلة النمو السريع ، وتتميز مرحلة النضج باستهلاك أسرع لسكر اللاكتوز واستهلاك الأمونيا الموجودة فى البيئة ، أما المرحلة الثالثة من التخمر فهى مرحلة الإنتاج التى عادة ما تكون متداخلة مع مرحلة النضج وفيها يستهلك حمض اللاكتيك بعد نفاذ كل السكر الموجود وتنتج غالبية كمية البنسلين فى هذه المرحلة ، لذلك فمن المهم أن تظل درجة الـ pH ثابتة عند ٧ فى هذه المرحلة كما يجب أن تضبط درجة الحرارة على ٢٥ ° م حيث أن هذه الظروف تساعد على عدم دخول التفاعل فى دورة حمض الستريك، ولقد وجد أن الزيت المضاف للبيئة له عدة فوائد ، حيث أن

أكسدة الأحماض الدهنية المكونة للزيت يصاحبها اختزال مرافقات الإنزيم NAD , FAD وهذا يمكن أن يساعد على الحفاظ على وجود جهد اختزال كافى فى البيئة ، كما وجد أيضاً أن الزيت يساعد على إطالة مدة حيوية الكائنات الحية الدقيقة فى البيئة خصوصاً عندما يتم الحفاظ باستمرار على المحتوى النيتروجينى فى البيئة بحيث لا يقل عن ١ جم/ لتر.

ومن فوائد إضافة الزيوت النباتية أيضاً فى مخمرات إنتاج البنسلين منع تكون الرغاوى، ولقد وجد ان إضافة زيت بذور عباد الشمس إلى بيئة التخمر بكمية لا تزيد عن ١٪ لا تؤثر على إنتاج البنسلين، أما إذا زاد التركيز عن ذلك فإن المحصول الناتج من البنسلين ينخفض بشدة ، وهذا التأثير السام للزيوت ربما يكون غير مباشر حيث قد يرجع إلى إعاقة انتشار الأكسجين فى خلايا الميسيليوم نتيجة تكون غشاء من الزيت يفصل جدر الخلايا عن بيئة التخمر المحتوية على الأكسجين.

ولقد وجد أن الفطر المنتج للبنسلين ***P. chrysogenum*** ينتج أيضاً إنزيمات قوية محللة للبروتينات وتتميز هذه الإنزيمات إلى ثلاثة أنواع على درجة الـ pH المثلى لكل منهم كما يلى:

- إنزيم Protease يبلغ أعلى نشاط له عند ٥pH – ٦,٥.
- إنزيم Proteinase يبلغ أعلى نشاط له عند pH ٧ – ٧,٥.
- إنزيم Peptidase يصل نشاطه لأقصاه عند pH ٨ –٨,٤.

وهذه الإنزيمات المحللة للبروتين تقوم بتحليل البروتينات الموجودة فى بيئة التخمر ، وكقاعدة عامة فإن أعلى نشاط تحللى للبروتين يصاحبه أعلى إنتاج من البنسلين، حيث أن زيادة النشاط التحللى للبروتين الموجود فى منقوع الذرة أو المواد النباتية الأخرى يعمل على توفير النيتروجين للفطر المنتج للبنسلين.

ومن بين مصادر الكربون المستخدمة فى بيئة التخمر وجد أن اللاكتوز هو الأفضل لتخليق البنسلين وهذا يرجع إلى أن الفطر يستهلك اللاكتوز ببطء مقارنة بمصادر الكربون الأخرى مثل الجلوكوز حيث يبقى اللاكتوز فى البيئة طوال فترة التخمر حتى يبلغ إنتاج البنسلين فى البيئة أقصى حد له ، أما الجلوكوز فإنه

يستهلك بسرعة حيث يستهلك خلال ٣٠-٤٠ ساعة فى حين يستهلك اللاكتوز فى ٦ أيام ، ولقد وجد أن أعلى إنتاج للبنسلين يمكن تحقيقه فى ٦-٧ أيام ، إلا أنه يمكن استبدال اللاكتوز بمواد كربوهيدراتية سهلة التمثيل مثل الجلوكوز والسكروز والجلاكتوز والزيلوز أو النشا مع مراعاة إمداد البيئة بهذه المواد الكربوهيدراتية سهلة التمثيل طوال فترة التخمر.

ولقد وجد أنه عند إضافة الأحماض العضوية مثل حمض الماليك بمعدل ١ جم/لتر مرة يومياً أو حمض السكسنيك بنفس التركيز مرتين يومياً يؤدى ذلك إلى زيادة المحصول الناتج من البنسلين، كما أن إضافة الأحماض الدهنية غير المشبعة والإيثانول وحمض اللاكتيك وحمض الستريك إلى بيئة التخمر يزيد من إنتاج البنسلين ، ويعتبر عنصر الكبريت هام جداً للتخليق الحيوى للبنسلين حيث يمكن إضافته فى صورة كبريتات صوديوم، ومن ناحية أخرى فقد وجد أن أيون النحاس بتركيز يزيد عن ٢ مليجرام / لتر يمنع تماماً إنتاج البنسلين ولكن ليس له تأثير على نمو الفطر، كما وجد أن إضافة الحديد بتركيز ١ مليجرام / لتر يوقف تأثير النحاس المثبط لتخليق البنسلين ، كما أن وجود المعادن الثقيلة فى البيئات المتعادلة والقلوية تتفاعل مع الفوسفات وتكون أملاح غير ذائبة، أما بالنسبة لدرجة الحرارة المثلى لنمو الفطر المنتج للبنسلين فهى٣٠ °م بينما الدرجة المثلى للتخليق الحيوى للبنسلين هى٢٥° م، أما تهوية المزارع فهى من العوامل الهامة جداً لإنتاج البنسلين ، فعندما تكون التهوية مناسبة تتكون أعلى كمية من البنسلين بينما التهوية غير الكافية أو التهوية الزائدة تنقص من المحصول الناتج ، كما أن رج بيئة التخمر يعتبر عامل هام أيضاً حيث أنه كلما زادت قوة الرج فى المخمر زاد معدل استهلاك اللاكتوز وبالتالى يزداد إنتاج البنسلين.

كذلك وجد أن تراكم نواتج التمثيل الغذائى **Metabolites** ونواتج التحلل الذاتى لميسيليوم الفطر ***P. chrysogenum*** فى بيئة التخمر له تأثير مثبط لإنتاج البنسلين، إلا أن إضافة المواد الغذائية للبيئة أثناء نمو الفطر يقلل من التحلل الذاتى للميسيليوم ويقلل من تكون المواد السامة فى بيئة التخمر.

مما سبق يتضح أن العوامل التى تؤدى على الحصول على أعلى إنتاج من البنسلين والواجب مراعاتها هى:

١-النمو الغزير للميسيليوم.

٢-الإمداد الكافى للبيئة بالمواد الغذائية والأكسجين.

٣-أن يكون الـ pH مناسب لكل مرحلة من مراحل الإنتاج.

٤-الإمداد بالمواد الكربوهيدراتية المناسبة ، حيث أنه أثناء نمو الفطر يجب أن تحتوى البيئة على مصدر كربون سهل التمثيل أما أثناء التخليق الحيوى للبنسلين فيجب أن تحتوى البيئة على مصدر كربون يستهلك ببطء وذلك أما باستخدام اللاكتوز أو بإضافة الجلوكوز أو سكر أخر على فترات.

٥- يجب توفير مادة ممهدة Precursor مناسبة لتكوين السلسلة الجانبية.

استخلاص البنسلين

أول مرحلة لاستخلاص البنسلين من بيئة التخمر هى فصل راشح المزرعة عن ميسيليوم الفطر بالترشيح أو بالطرد المركزى، ثم يغسل الميسيليوم بعد فصله لتجنب أى فقد فى المضاد الحيوى، وبعد ذلك يتم فصل البنسلين من راشح المزرعة بالاستخلاص بالمذيبات العضوية الغير قابلة للامتزاج بالماء ، ومن المذيبات المستخدمة لهذا الغرض Amyl acetate و Butyl acetate و Butyl alcohol، ويتم فصل البنسلين من الوسط المائى (راشح المزرعة) بأى من هذه المذيبات حيث يتحول البنسلين إلى حمض فى صورة حرة فى المذيب المستخدم ، وبعد ذلك يفصل المذيب المحتوى على البنسلين عن راشح المزارع ويخلط بالماء وبإضافة قلوى يتحول البنسلين من صورة الحمض الذائب فى المذيب العضوى إلى ملح يذوب فى الوسط المائى وبذلك يمكن نقل البنسلين كمياً من المذيب العضوى إلى الوسط المائى ثم يركز البنسلين ويبلور ويجفف ويعبأ.

ويجب أن تجرى كل مراحل إنتاج البنسلين تحت ظروف تعقيم تام ، حيث أن تلوث المزارع يؤدى إلى هبوط حاد فى المحصول الناتج ، فكثير من البكتريا مثل *Bacillus subtilis,B.mesentericus ,B.megaterium ,B.cereus,*

E.coli يمكنها إنتاج إنزيم البنسلينيز Penicillinase القادر على تكسير البنسلين ، حيث يقوم هذا الإنزيم بكسر إحدى النويات الحلقية فى نواة جزئ البنسلين ويمكن تلخيص خطوات الإنتاج فيما يلى:

المرحلة الأولى : تجهيز البيئة Preparation of medium

تستعمل مخلفات صناعة النشا من الذرة Corn steep liquor ، واللاكتوز ، والأملاح المعدنية ، وغير ذلك من مكونات ، تخلط بعضها ببعض وتعقم ، ثم تترك لتبرد ، ويتم ضخها فى وعاء التخمر.

المرحلة الثانية : إعداد اللقاح الأولى

يستعمل الفطر *Penicillium chrysogenum*، حيث تنقل النموات الفطرية من المزرعة النقية على الأجار المائل إلى دورق زجاجى يحتوى على ردة مبللة ومعقمة ، وبعد استكمال نمو الفطر على الردة ، يتم تكوين معلق للجراثيم ، وينقل إلى وعاء يحتوى على بيئة معقمة يطلق عليه اسم bazooka يستعمل بعد ذلك لتلقيح وعاء التخمر التجارى الكبير الحجم.

المرحلة الثالثة : مرحلة التخمر

يحتوى وعاء التخمر على البيئة السابق تجهيزها ، ثم يلقح بالبيئة السابق إعدادها فى المرحلة السابقة التى ينمو فيها الفطر ،ثم يدفع هواء معقم فى وعاء التخمر خلال مرحلة التخمر.

المرحلة الرابعة : الحصول على البنسلين

بعد الوصول إلى أقصى كمية ممكنة من المضاد الحيوى تم تكوينها بفعل الفطر ، تزال النموات الفطرية عن طريق الترشيح ، ثم يستخلص البنسلين فى صورة نقية عن طريق سلسلة متتابعة من عمليات الاستخلاص تشمل الترسيب ، وإعادة الإذابة والترشيح وغير ذلك ويراعى ما يلي عند إنتاج البنسلين:

١- البيئة الغذائية

حيث تستخدم بيئة تحتوى على ، سائل منقوع الذرة **Corn steep liquor** ولاكتوز وأملاح معدنية ، ومواد أخرى ممهدة **Precursors** يضبط الـ PH عند ٥,٥ وتخلط البيئة وتعقم وتبرد وتضخ إلى المخمر.

٢-السلالة المستخدمة

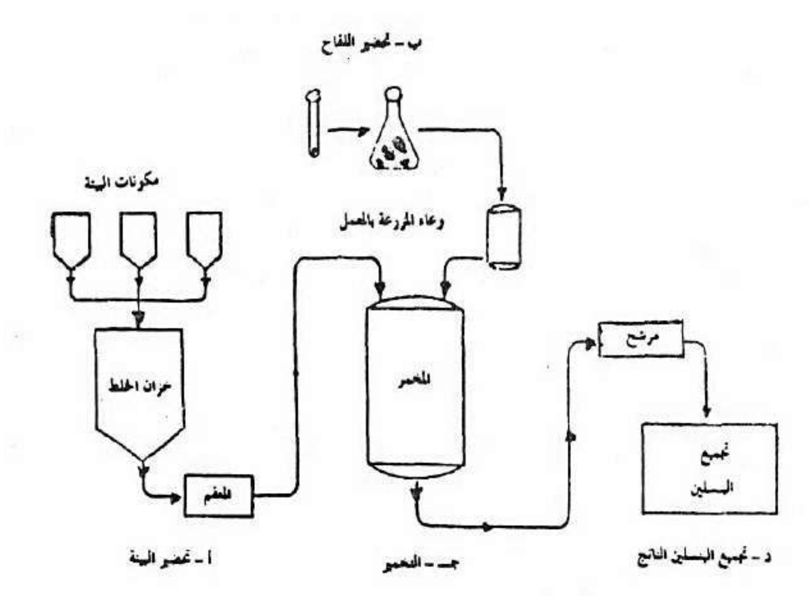
حيث تستخدم سلالة نقية منتخبة من الفطر ***Penicillium chrysogenum*** لها القدرة على الإنتاج بكفاءة عالية ، ولإعداد اللقاح ينقل الفطر بعد التحضين من الأجار المائل إلى بيئة نخالة القمح ، ثم ينقل معلق جراثيم الفطر بعد ذلك إلى بيئة معقمة ثم التحضين ، وبذلك يتكون اللقاح الذي يستعمل لتلقيح المخمرات مع مراعاة تجنب التلوث أثناء إعداد اللقاح وأثناء التخمير.

تلقيح بيئة التخمر والإنتاج

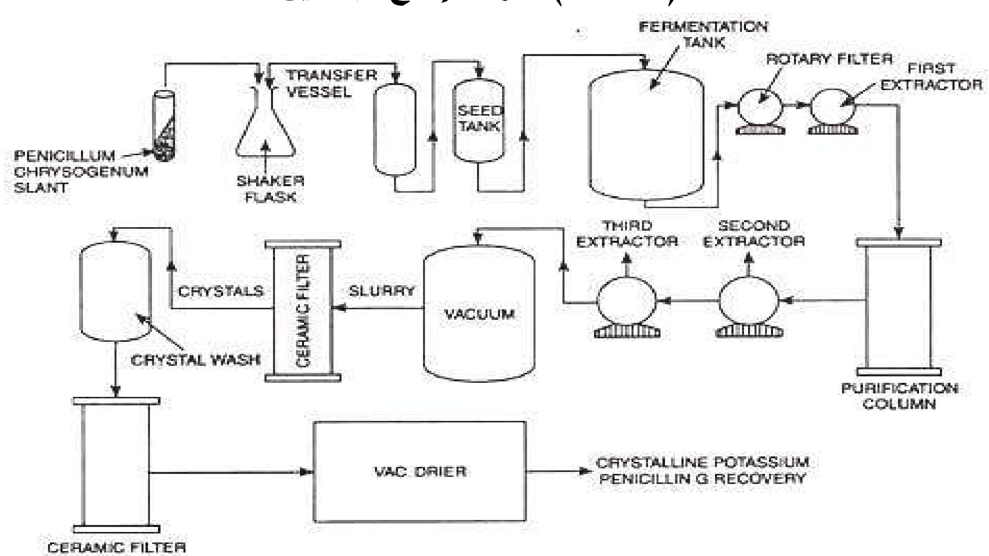
تلقح البيئة باللقاح بمعدل ٥ ٪ من حجمها ، ويتم الإنتاج بطريقة المزرعة المغمورة مع التهوية بهواء مضغوط معقم والتقليب خلال فترة التخمير ويتم التخمير خلال عدة أيام على درجة ٢٢-٢٧ °م، وطريقة المزرعة المغمورة هي المستعملة الأن صناعياً في الإنتاج لأنها تعطى كميات أكبر من البنسلين في زمن أقصر ، وتحتاج لمساحات ومعدات أقل ، وذلك إذا ما قورنت بالطرق السطحية التي كانت متبعة قديماً في الإنتاج.

تجميع البنسلين الناتج

بعد انتهاء التخمير ، ترشح المزرعة لفصل الميسيليوم ، ثم يؤخذ الراشح ويستخلص منه البنسلين بالمذيبات العضوية، ثم ينقى بالترسيب ، ويعاد الإذابة والترسيب والترشيح ويركز البنسلين ، ويبلور ، ويجفف ، ويعبأ ، ويسوق والشكل التالي يوضح خطوات إنتاج البنسلين:



شكل (١١-٩أ): مراحل إنتاج البنسلين



شكل (١١-٩ ب): مراحل إنتاج البنسلين

إنتاج الإستربتوميسين

التركيب الكيميائى للإستربتوميسين

يتركب المضاد الحيوى إستربتوميسين كما يتضح فى الشكل من ثلاث وحدات بنائية ، الأولى هى مركب **Streptidine** وهذا المركب يرتبط مع الوحدة البنائية

الثانية وهى السكر الميثيلى **L–streptose** الذى يرتبط بدوره مع الوحدة البنائية الثالثة وهى المركب **N–methyl–L–glucoseamine**، كما يمكن أن يتحد الإستربتوميسين مع سكر المانوز مكوناً المضاد الحيوى **Mannosidostreptomycin**, كذلك يمكن أن تحدث بعض التعديلات فى وحدات بناء الإستربتوميسين مثل الأكسدة أو الاختزال ينتج عنها المضادات الحيوية التى لها علاقة بالإستربتوميسين ، فمثلاً أكسدة مجموعة الميثايل فى سكر **L–streptose** ينتج عنها المضاد الحيوى **Hydroxystreptomycin** واختزال مجموعة الألدهيد يعطى المضاد الحيوى **Dihydroxystreptomycin**.

التخليق الحيوى للإستربتوميسين

إن وحدات بناء الإستربتوميسين التى سبق توضيحها تأتى كلها من الجلوكوز، أما كيفية تكوين الروابط التى تربط بين هذه الوحدات فما زالت غير معروفة ، ويوجد بالطبع نواتج وسطية كثيرة أثناء تحول الجلوكوز إلى وحدات بناء الإستربتوميسين ، وما يعنينا فى هذا الجزء أن الجلوكوز هو أساس التخليق الحيوى لوحدات بناء الإستربتوميسين.

شكل (١١-١٠): **Streptomycin**

إنتاج الإستربتوميسين

بالنظر إلى طريقة التخليق الحيوى للإستربتوميسين نلاحظ أن بيئة التخمر المستخدمة لإنتاج الإستربتوميسين بكميات تجارية تحتوى على سكر الجلوكوز كمصدر أساسى للمواد الكربوهيدراتية على الرغم أن السلالة المستخدمة فى عملية الإنتاج وهى ***Streptomyces griseus*** يمكن أن تنمو جيداً على السكريات الأخرى مثل الفركتوز ، الجلاكتوز ، اللاكتوز ، المالتوز وعديدات التسكر مثل النشا، ومن المهم الإشارة إلى أن هذه السلالة لا يمكنها النمو على السكروز والرافينوز كما أن أفضل مصادر النيتروجين لهذه السلالة هى أملاح الأمونيوم.

Scientific classification

Domain:Bacteria

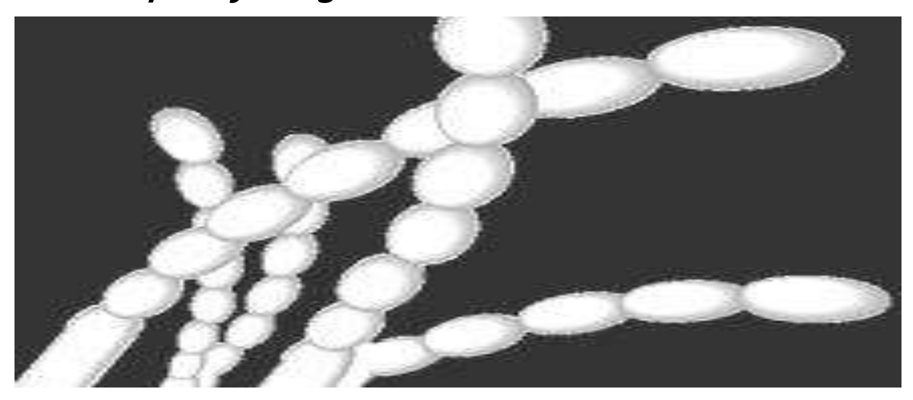
Phylum:Actinobacteria

Order:Actinomycetales

Family:Streptomycetaceae

Genus:*Streptomyces*

Species: *Streptomyces griseus*



شكل (١١-١١): *Streptomyces griseus*

Biosynthetic Pathway of Components of Streptomycin

شكل (١١-١٢): خطوات التخليق الحيوى لمركب Streptidine

والسكريات لها تأثير واضح جداً على تخليق إنزيم **Mannosidase** الذى يحول المضاد الحيوى **Mannosidostreptomycin** إلى المضاد الحيوى إستربتوميسين، حيث وجد أن الجلوكوز بتركيز أكثر من ١٪ يمنع تماماً تخليق الإنزيم، ودرجة الحرارة المناسبة لزيادة سرعة فعل الإنزيم هى٣٢ ° م ولكن هذه الدرجة المرتفعة لا يسمح بها إلا بعد اكتمال تخليق الإستربتوميسين لأنها غير مناسبة لتخليق الإستربتوميسين كما سبق توضيحه، ومن الواضح أن الظروف المثلى لفعل إنزيم **Mannosidase** تحتاج إلى دقة عالية وسرعة كبيرة حتى يمكن الوصول إليها عند اقتراب انتهاء فترة التخمير لأن فترة تخليق إنزيم **Mannosidase** تعتبر حرجة جداً حيث أن تكوين الإنزيم يجب أن يتم فى وقت قصير وهو الوقت الذى ينخفض فيه تركيز سكر الجلوكوز إلى أقل من ١٪.

الظروف البيئية المثلى لإنتاج الإستربتوميسين هى كما يلى :

- توفر كمية كافية وليست زائدة عن الحد من الجلوكوز (١ ٪).

- تركيز منخفض من الفوسفات غير العضوى (٠٠٦ , –٢ ٠,٠٪ وزن/ حجم فوسفات ذائب) .
- إمداد مستمر ولكن بكميات محدودة من النيتروجين لمنع التخليق السريع والزائد للبروتين.
- توفر تهوية جيدة.
- تحكم جيد فى رقم الـ pH بحيث يكون فى المدى من ٧ – ٨.
- تحكم جيد فى درجة الحرارة بحيث تكون فى المدى من٢٧ – ٢٩ ° م.

والبيئة المثلى لإنتاج الإستربتوميسين تتكون من ٢,٥٪ جلوكوز ، ٤٪ فول صويا ،٠,٥٪ نواتج تقطير جافة ذائبة، ٢٥ ,٪ كلوريد صوديوم ونواتج التقطير الجافة الذائبة هى مصدر للفوسفور الذائب الذى يجب أن تضاف بحذر حيث قد تنشأ عنها تأثيرات معاكسة للتخمر مما يستوجب إضافة أملاح الكالسيوم أو الماغنسيوم لترسيب الفوسفات والتغلب على هذه التأثيرات الضارة ، ومن ناحية أخرى فإن استخدام أيونات الكالسيوم أو الماغنسيوم يجب أن يكون محدود لأنها يمكن أن تتداخل مع الإستربتوميسين أثناء عملية الاستخلاص ، وفى عملية تخمر الإستربتوميسين توجد ثلاثة أطوار أو مراحل يمكن تمييزها أثناء مدة التخمر وهى كما يلى:

المرحلة الأولى: تتميز بانطلاق الأمونيا من بروتين فول الصويا ولذلك يرتفع pH البيئة بمعدل ثابت من ٦,٧ إلى ٧,٦ فى نهاية العشرين ساعة الأولى من التخمر ويصاحب ذلك نمو الميكروب واستهلاك الجلوكوز والنيتروجين مما يمنع ارتفاع الـ pH أكثر من ذلك .

المرحلة الثانية : هى مرحلة إنتاج الإستربتوميسين وتتميز بانخفاض تدريجى فى قيمة الـ pH مصحوباً بزيادة سريعة فى تركيز الإستربتوميسين .

المرحلة الثالثة : وفيها يتم فصل الإستربتوميسين عن طريق الادمصاص بعملية التبادل الكاتيونى.

ويوجـد مضـاد حيـوى أخـر وهـو Mannosidostreptomycin ويعـرف بإستربتوميسين ب وهو عبارة عن الإستربتوميسين مرتبط مع سكر D-Mannose بواسطة الرابطة α-glycosidic عند ذرة الكربون رقم ٤ فى الوحدة البنائية -N Methyl-L-glucoseamine، وهـذا المضـاد الحيـوى ينـتج أثنـاء تخمـر الإستربتوميسين وقد تصل نسبة تكونه فى بيئة التخمير إلى ٤ ,٪ ، وهذا المضاد الحيوى له فعل مضاد للبكتريا بقوة تساوى خمس قوة فعل الإستربتوميسين ولذلك فإن مـن أهـداف عمليـة إنتـاج الإستربتوميسـين أن لا يكـون المضـاد الحيـوى Mannosidostreptomycin أكثـر مـن ١٠٪ مـن الإستربتوميسـين فـى نهايـة التخمير،وقد وجد أن المضـاد الحيـوى Mannosidostreptomycin يتكسـر إلـى الإستربتوميسين فى المراحل الأخيرة من التخمر تحت تـأثير إنـزيم Mannosidase ولذلك تضاف بعض المواد مثل المانان (وهو يوجد فـى نـواتج التقطير الجافـة الذائبـة المضافة لبيئة التخمير) لتنشيط هذا الإنزيم ورغم ذلك فإن هذا الإنزيم كثيراً ما يحدث لـه تثبيط ولـذلك لابـد أن يكـون المنـتج علـى درايـة بالعوامـل التـى يمكـن أن تثـبط أو تنشـط إنـزيم Mannosidase الـذى يحـول المضـاد الحيـوى Mannosidostreptomycin إلى إستربتوميسين وهذه العوامل هى :

- المعادن الثقيلة تثبط فعل الإنزيم.
- نقص التهوية يثبط فعل الإنزيم.
- أنسب رقم pH لفعل الإنزيم هو ٨ ولكن من الصعب الحفاظ على هذه الدرجة من القلوية حتى نهاية عملية تخليق الإستربتوميسين .

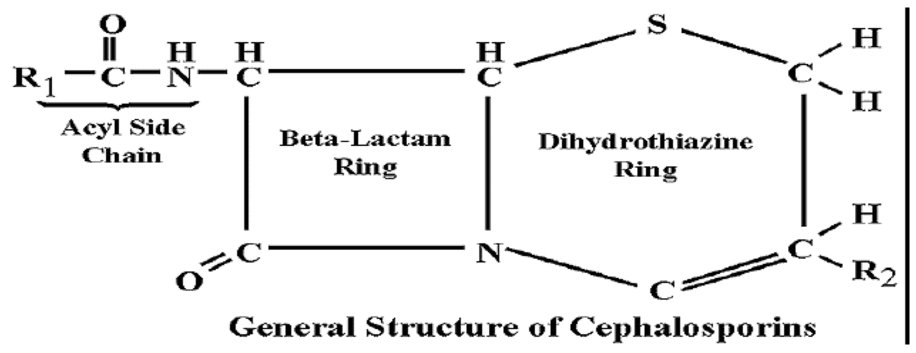
إنتاج السيفالوسبورينات

تتميز بعض السلالات الفطرية مثل

Cephalosporium acremonium CM149(137)

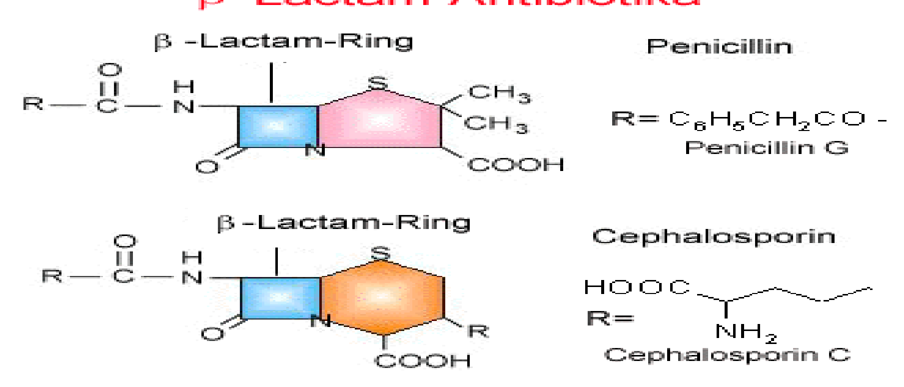
بإنتـاج خليطـاً مـن المضـادات الحيويـة التـى تعرف باسـم "سيفالوسـبورينات Cephalosporins "، ويعتبـر مركـب Cephalosporin N الـذى يعرف باسـم أديسيلين Adicillin مشتقاً من المركب ٦ أمينو حمض البنسليك (6-APA) ولذا

فهو بنسلين بينما Cephalosporin P عبارة عن مضاد حيوى مشابه للستيرويد Steroid–like antibiotic.



شكل (١١-١٣): الشكل البنائى للسيفالوسبورين

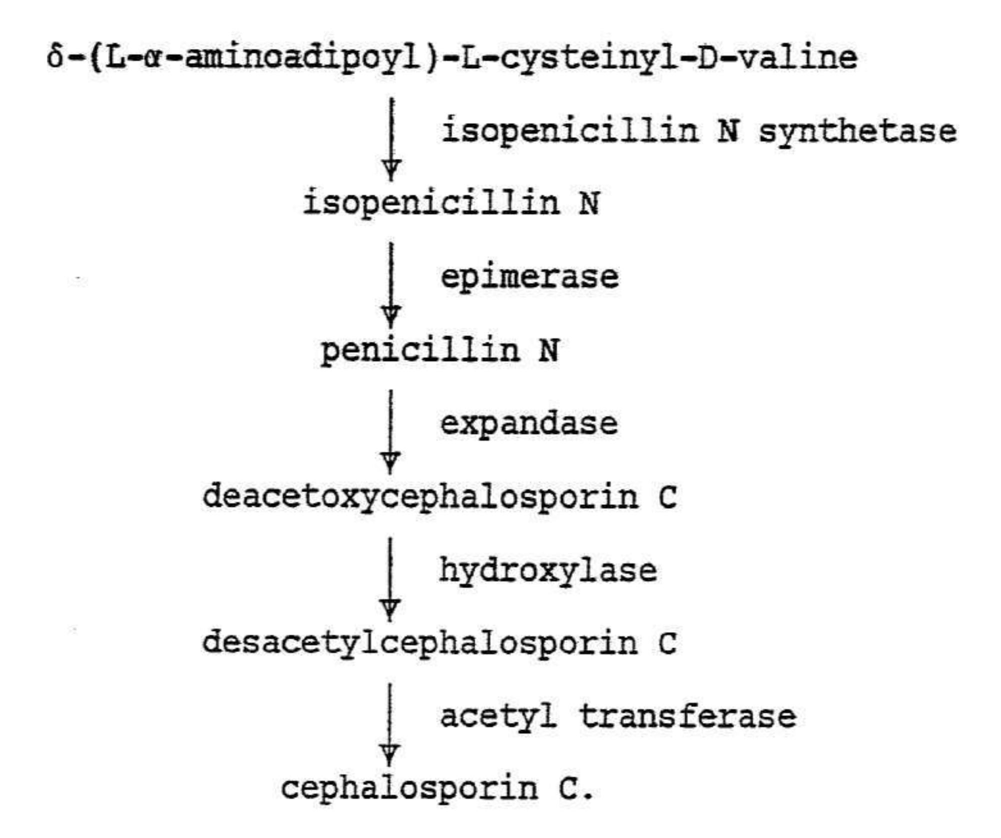
ويعتبر مركب C Cephalosporin هو المركب الأصلى Parent compound لجميع المضادات الحيوية التى تعرف باسم السيفالوسبورينات ويمكن إزالة السلسلة الجانبية α–aminoadupyl side–chain بواسطة التحليل المائى مع أخذ الاحتياطات اللازمة حيث ينتج من ذلك حمض ٧ أمينو سيفالوسبورانيك 7–aminocephalosporanic acid (7–ACA) ويمكن تحويل هذا المركب إلى عديد من المشتقات المختلفة ذات السلاسل الجانبية المتباينة.



شكل (١١-١٤): المضادات الحيوية من النوع بيتا لاكتام

يعتبر المركب 7–ACA قريب الصلة بدرجة كبيرة بالبنسلينات ، إلا أنه ليس حساساً لفعل إنزيم Penicillinase وعلى الرغم من ذلك يمكن تحليله مائياً بواسطة مجموعة أخرى من الإنزيمات المحللة يطلق عليها اسم Cephalosporinases

ولا يستعمل المركب Cephalosporin C الموجود فى الطبيعة كمضاد حيوى ، ومع ذلك فإنه يستخدم فى إنتاج حمض ٧ أمينو سيفالوسبورانيك (7–ACA) ، الذى تعاد إضافة مجاميع الأسيل Reacylated إليه بواسطة سلاسل جانبية متنوعة ، وذلك لإنتاج أنواع السيفالوسبورينات المخلقة Synthetic cephalosporins ذات القيمة الاقتصادية العالية، ويتميز السيفالوسبورين بسميته المنخفضة Low toxicity ، وتأثيره الواسع على العديد من الكائنات الحية الدقيقة بالمقارنة بالأمبسلين، ويمثل إنتاج السيفالوسبورين ٢٩٪ من جملة الإنتاج العالمى للمضادات الحيوية ، حيث يوجد حوالى٣٠ نوعاً من مشتقات السيفالوسبورينات ذات الاستخدامات الطبية.



شكل (١١–١٥) :خطوات التخليق الحيوى للسيفالوسبورين بواسطة الفطر *Cephalosporium acremonium* CM149(137)

L-alpha-AAA + LCys +LVal

LLD-ACV

Isopenicillin N synthase

Isopenicillin N

epimerase

Penicillin G

Penicillin N

deacetoxycephalosporin C synthetase

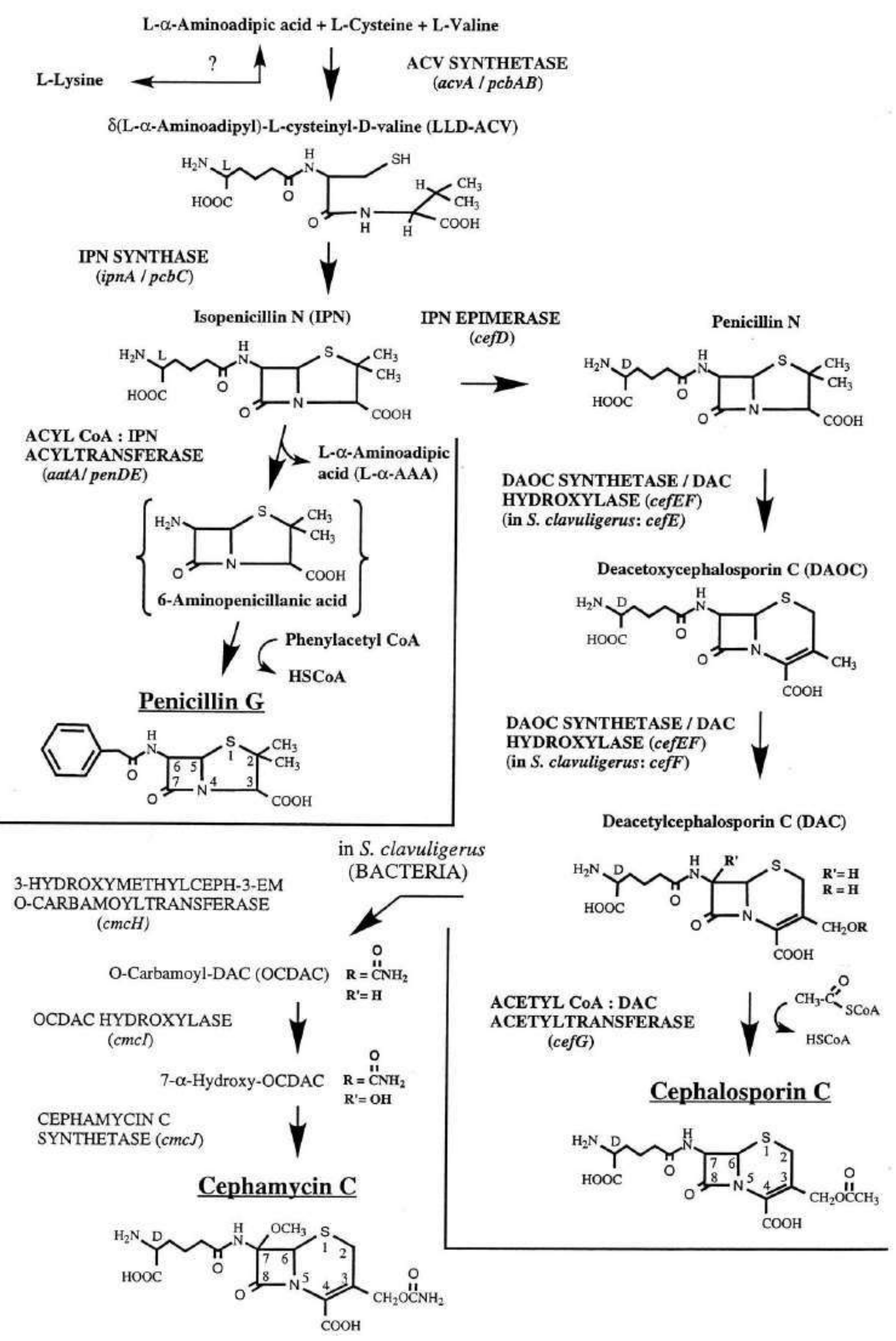
Deacetoxycephalosporin C

Deacetylcephalosporin C

Cephalosporin C

Cephamycins

شكل (١١-١٦): خطوات التخليق الحيوى للسيفالوسبورين بواسطة الفطر ***Cephalosporium acremonium*** **CM149(137) بالرموز الكيميائى**



شكل (١١–١٧) : خطوات تخليق Cephalosporin C من حمض ألفا أمينو أديبيك

وكما هو الحال فى البنسلين ، فالسيفالوسبورينات يتم إنتاجها بواسطة المزارع الفطرية المنماة بنظام التغذية على دفعات **Fed batch culture** ، وذلك بإنماء الفطر على المحلول المتخلف عن صناعة نشا الذرة ، ويضاف للمحلول السابق مستخلص اللحم وسكروز وخلات أمونيوم، وتتم عادة إضافة مكونات البيئة السابقة بتركيزات متزايدة ، ويضبط رقم الحموضة عند ٦-٧ ، ودرجة الحرارة عند ٢٤- ٢٨ °م ويجب مراعاة احتياج الفطر ***Cephalosporium*** إلى تركيزات عالية من الأكسجين أثناء نموه ، بينما تقل احتياجاته للأكسجين عند إنتاجه للسيفالوسبورينات، ويتم التحكم فى إنتاج هذه المضادات الحيوية وذلك بالفوسفات ، أو عن طريق مصدر النيتروجين أو مصدر الكربوهيدرات ، حيث لوحظ أن استخدام الجلوكوز والمالتوز والجليسرول يعمل على خفض إنتاج الفطر للسيفالوسبورينات بعكس الحال عند إضافة حمض ألفا أمينو أديبيك **α-amino adepic acid** والميثيونين اللذان يعملان على زيادة إنتاج الفطر لهذه المضادات الحيوية.

إنتاج الجريسوفولفين

يعتبر الجريسوفولفين **Griseofulvin** المضاد الحيوى الوحيد المؤثر على الفطريات ذو الاستعمال الطبى ، والذى ينتج عن طريق الفطريات ، حيث ينتجه الفطر ***Penicillium griseofulvum*** وهو المضاد الحيوى الوحيد الذى يحتوى تركيبه الكيميائى على حلقة عطرية.

GRISEOFULVIN

شكل (١١-١٨) : الجريسوفولفين

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Class:Eurotiomycetes

Order:Eurotiales

Family:Trichocomaceae

Genus:*Penicillium*

Species:*Penicillium griseofulvum*

ويقوم هذا المضاد الحيوى بتثبيط إنبات الجراثيم الفطرية ونمو الهيفات ، لذا فتأثيره الرئيسى تثبيطياًFungistatic أكثر منه قاتلاً للفطريات Fungicidal ونظراً لانخفاض سمية هذا المضاد الحيوى وقابليته للتراكم فى الجلد والشعر والأظافر عقب تناوله عن طريق الفم ، فإنه يستعمل فى علاج الأمراض الفطرية التى تصيب الجلد سطحياً Superficial dermatophytoses مثال ذلك مرض القوباء الحلقية Ringworn والقراع Favus وهى أمراض جلدية معدية، ويتم إنتاج الجريسوفولفين باستعمال بيئة تحتوى على سكر اللاكتوز والمخلفات السائلة لصناعة النشا من الذرة Corn steep liquor ، وملح كربونات الكالسيوم ، وملح فوسفات البوتاسيوم ثنائى الهيدروجين Potassium dihydrogen phosphate ، حيث تتم حماية ذرة الكلور عن طريق إضافة ملح كلوريد البوتاسيوم ونترات الصوديوم كمصدر للنيتروجين، ويصل إنتاج هذا المضاد الحيوى إلى حوالى ١,٥ جراماً لكل لتر من البيئة الغذائية المستعملة فى تنمية الفطر ، وذلك بعد سبعة أيام من التحضين على حرارة ٢٥° م ويمكن الحصول على الجريسوفولفين مباشرة من بيئة النمو وذلك عن طريق استعمال مذيبات ثم ينقى ويحول إلى بلورات .

شكل (١١-١٩) : خطوات التخليق الحيوى للجربسوفلفين

إنتاج الفيوسيدانات

يعتبر حمض الفيوسيديك Fusidic acid وحمض الهيلفوليك Helvolic acid و Cephalosporin P مضادات حيوية ذات تركيب بنائى يعتمد على هيكل الفيوسيدان Fusidane skeleton، ولا يستخدم من هذه المضادات الحيوية السابقة سوى حمض الفيوسيديك فى العلاج ، نظراً لتأثيره على البكتريا الموجبة لصبغة جرام خاصة البكتريا العنقودية المقاومة للبنسلين Penicillin-resistant staphylococci وذلك عند تناوله عن طريق الفم.

شكل (١١-٢٠): حمض الفيوسيديك

ولقد عزل حمض الفيوسيديك لأول مرة من الفطر *Fusidium coccineum* إلا أنه تم الحصول عليه بعد ذلك من فطريات عديدة أخرى مثل الفطر *Mucor ramannianus* تحت اسم راميسين Ramycin ، وأيضاً من بعض الأنواع التابعة لجنس *Cephalosporium*.

Scientific classification

Kingdom:Fungi

Phylum:Ascomycota

Cass: Sordariomycetes

Order:Hypocreales

Family:Nectriaceae

Genus:*Fusidium* Species:*Fusidium coccineum*

ويوجد مضاد حيوى أخر ذو هيكل من الفيوسيدان هو حمض الهيلفوليك Helvolic acid ، يتم إنتاجه عن طريق عدد من الفطريات منها *Aspergillus fumigatus* والفطر *Cephalosporium caerulens*.

ميكانيكية عمل المضادات الحيوية Mode of action of antibiotics

تعمل وسائل العلاج الكيميائى على عرقلة نمو الخلايا الميكروبية إلى أن تبدأ وسائل العائل الدفاعية فى إبادة المسبب المرضى ، أما وسائل العلاج الميكروبية فهى تعمل على إبادة وقتل الميكروب الممرض دون مساعدة دفاعية من العائل، وتختلف وسائل إبادة المسبب المرضى باختلاف العقار المستخدم فى العلاج ، لذلك تتنوع المضادات الميكروبية فى وسائل التخلص والقضاء على الميكروبات المرضية وذلك عن طريق التأثير على إحدى العمليات الحيوية التالية:

- تثبيط تخليق الجدار الخلوى.
- تثبيط وظائف الغشاء الخلوى.
- تثبيط تخليق البروتين.

- تثبيط تخليق الأحماض النووية.
- تثبيط عملية التنفس.

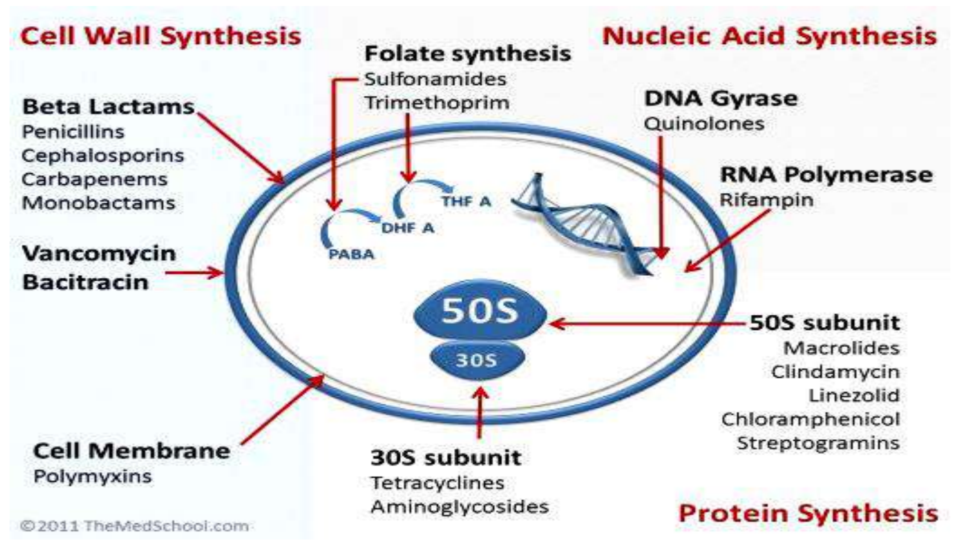
وتختلف المضادات الحيوية من حيث تأثيرها على الكائنات الحية الدقيقة الممرضة ، ولقد اقترحت عدة طرق لتقسيم المضادات الحيوية منها تقسيم واكسمان عام ١٩٦٢م على أساس مدى نشاط المضادات الحيوية ضد الكائنات الحية الدقيقة , ثم يقسم كل قسم إلى مجموعات حسب بعض الخواص الطبيعية مثل امتصاص الضوء والقابلية للذوبان فى المذيبات المختلفة.

أولاً: تأثير المضادات الحيوية علي تثبيط تخليق جدار الخلية البكتيرية

معظم جدر الخلايا الميكروبية تحتوي علي حزام صلب من البيتيدوجلوكان Peptidoglycan والمضاد الحيوي ومن أهم المضادات الحيوية التى تؤثر على تخليق الجدار الخلوي مضادات

Penicillin Cephalosporin , Bacitracin and Vancomycin .

حيث تعمل هذه المضادات علي وقف تخليق الببتيدوجلوكان مسببين تحلل الجدار الخلوي كما أن المضاد الحيوي **Penicillin** لا يخترق غشاء الخلية الخارجي وهو يؤثر بدرجة قليلة ضد البكتريا السالبة لصبغة جرام.



شكل (١١-٢١) : ميكانيكيات تأثير المضادات الحيوية

ثانياً: تأثير المضادات الحيوية علي تثبيط تخليق الأحماض النووية

تعمل بعض المضادات الحيوية علي وقف تخليق النيكوليوتيدات Nucleotidesحيث تعمل علي تثبيط عمليات النسخ وتوقف عمليات النقل داخل الخلية الميكروبية ومن أهم المضادات الحيوية التى تثبط تخليق البروتين Sulfonamides, Rifampicin and Ciprofloxacin التى تعمل علي وقف تخليق الإنزيمات اللازمة لتكوين التتراهيدروفولات Tetrahydrofolate المطلوبة لتخليق الأحماض النوويةDNA&RNA.

ثالثاً: تأثير المضادات الحيوية علي تخليق البروتين

من المعروف أن الريبوسومات في الكائنات الحية حقيقية النواة مختلفة في الحجم والتركيب عن الموجودة في الكائنات الحية بدائية النواة ، لذلك نجد أن المواد المضادة للميكروبات عادة لها خاصية الانتخاب أو انتقاء فعلها المضاد ضد الكائنات الحية بدائية النواة حيث تستطيع أن تحدث ضررا أو تلف لمثل هذه الكائنات، حيث نجد أن المضادات الحيوية من النوع Aminoglycosides, ,Kanamycin,Neomycin ,Erytromycin ,Amikacin , Streptomycin, Gentamycin حيث تستطيع أن تقتحم الأماكن التي تساعد علي حدوث قراءة الـ m– RNA وتسبب خطأ في القراءة ، وكذلك المضاد الحيوي Tetracyclineيعمل علي وقف ارتباط t– RNA ويعمل أيضاً علي وقف تخليقه.

رابعاً: تأثير المضادات الحيوية علي تثبيط وظائف الغشاء السيتوبلازمى

تموت الخلية البكتيرية عند حدوث تلف في الغشاء السيتوبلازمى لها بسبب تثبيط عمليات التمثيل الغذائي وعمليات التحلل المختلقة داخل الخلية ، فكل مجموعة من المضادات الحيوية متخصصة لمجموعة معينة من الميكروبات وذلك بناء علي اختلاف أنواع الدهون الموجودة في الغشاء السيتوبلازمى للخلية حيث نجد أن المضاد الحيوي Polymyxin, Nystatin والتى تتفاعل مع Phospholipids ويحدث ارتشاح خصوصاً في أغشية البكتريا السالبة.

خامساً: تأثير المضادات الحيوية علي تثبيط التمثيل الغذائى للبكتريا

تعرف المركبات التى تؤثر على التمثيل الغذائى للبكتريا بال Antimetabolites وغالبا ما تكون هذه المركبات لها بناء مشابه لمادة التفاعل التى يعمل عليها الإنزيم وبالتالى يحدث تنافس بينAntimetabolites ومادة التفاعل Substrate على مركز نشاط الإنزيم ويطلق عليها التثبيط بالتنافس Competitive inhibition ، ومن أهم الأمثلة على ذلك مركبات السلفا Sulfa drug التى تتنافس مع حمض Para amino benzoic acid (PABA) للارتباط بمركز النشاط الإنزيمى ، حيث يستخدم الإنزيم هذا الحمض لإنتاج حمض الفوليك الضرورى لعملية النمو، وعند اتحاد مركبات السلفا بمركز النشاط الخاص بحمض PABA لا ينتج حمض الفوليك ، ولذلك يتم تثبيط نمو البكتريا التى تقوم بتخليق هذا الحمض.

مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية

تعتبر هذه الظاهرة من أهم الصعوبات التي تواجه الأطباء في معالجة الأمراض الميكروبية سواء البكتيرية أو الفطرية ، ولقد ثبت أنه لا يوجد مضاد حيوي إلا وتحدث له هذه الظاهرة (مقاومة البكتريا) ولكن معدلات المقاومة تختلف من مضاد حيوى لأخر ومن كائن دقيق ممرض لأخر ، ومن أهم الطرق التي يمكن للبكتريا أن تقاوم بها الفعل الضار للمضادات الحيوية ما يلى:

- بعض أنواع من البكتريا تنتج إنزيمات تحلل المضاد الحيوى وتوقف فعاليته مثل إنزيم Penicillinase.
- بعض أنواع من البكتريا تفرز إنزيمات تغير من التركيب الكيميائي للمضاد الحيوي.
- بعض أنواع من البكتريا تغير من النفاذية الغشائية لخلايا البكتريا مما يعيق دخول المضاد الحيوى.
- بعض أنواع من البكتريا تغير من طبيعة بعض مكوناتها التي يستهدفها المضاد الحيوى.

أسس مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية

١- المقاومة الطبيعية Intrinsic resistance

٢- المقاومة بواسطة الطفرات Resistance by mutations

٣- المقاومة بواسطة البلازميدات Resistance by plasmids

تعود مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية إلى عامل المقاومة الوراثي(Resistance) R-factor الذي كان موجود أصلا بالميكروب وهو ما يعرف بالمقاومة الطبيعية Natural resistance , أو تعود المقاومة إلى اكتساب الميكروب لعامل المقاومة وهو ما يعرف بالمقاومة المكتسبة Acquired resistance على سبيل المثال فإن مقاومة البكتريا للبنسلين قد تكون بسبب المقاومة الطبيعية وذلك نتيجة لإنتاج البكتريا لإنزيم البنسلينيز الذي يوقف نشاط البنسلين، أو تأتى المقاومة بسبب المناعة المكتسبة وذلك نتيجة لاكتساب سلالات البكتريا الحساسة للبنسلين صفة المقاومة للبنسلين بإنتاجها لإنزيم البنسلينيز وهذا يحدث في سلالات البكتريا التي تأقلمت وراثياً وكونت طفرات مقاومة للبنسلين وبذلك تتكاثر وتسود في وجود المضاد الحيوي مقارنة بالبكتريا الأخرى الحساسة للبنسلين ، وقد تكتسب بعض أنواع البكتريا صفة المقاومة للبنسلين دون أن تنتج إنزيم البنسلينيز وهذا يدل على أن هذه الأنواع سلكت طرق أخرى بديلة في الأيض الغذائي لا تتأثر بوجود البنسلين أو بغيره من المضادات إذ أن تأثير أغلب المضادات يعود كما ذكر سابقاً إلى تثبيط بعض عمليات الأيض الغذائي بالخلية الميكروبية.

انتقال صفة المقاومة للمواد العلاجية الكيميائية إلى الميكروبات

عندما بدأ استعمال الكيمياويات في العلاج مثل مركبات السلفا والمضادات الحيوية كانت مقاومة البكتريا لهذه المواد نادرة وبانتشار استعمال هذه الكيماويات اختفت الميكروبات الحساسة وزاد تدريجياً الأفراد الميكروبية المقاومة إلى أن سادت

الأنواع المقاومة في المزارع الميكروبية وأصبحت مقاومة الميكروب للكيماويات العلاجية تمثل الأن مشكلة طبية وبحثية.

ولقد كان الاعتقاد في بداية ظهور أنواع بكتيرية مقاومة للمضادات أو الكيماويات أن سبب ذلك هو حدوث تغير في أحد الجينات بالخلية أدى إلى حدوث تلك المقاومة ولكن بتطوير الدراسات الخاصة بالمقاومة وجد أن سبب المقاومة في بعض أنواع البكتريا يعود إلى أنها تحتوى فعلا على جين وظيفته حماية البكتريا والمثل على ذلك وجود الجين المسئول عن إنتاج إنزيم البنسلينيز بالأنواع البكتيرية العنقودية الموجبة لصبغة جرام والمقاومة للبنسلين **Penicillin-resistant staphylococci**.

والأنواع البكتيرية التي تمتلك عامل المقاومة تنمو وتسود في وجود المادة الكيميائية المضادة بينما تموت وتختفي الأنواع الأخرى الحساسة ، وبالإضافة إلى ذلك فإن عامل المقاومة قد ينتقل أثناء العلاج بالكيماويات من ميكروب مقاوم **Resistant organism**إلى ميكروب أخر حساس للعقار **Sensitive organism** ويتم هذا الانتقال بين سلالتين تابعتين لنفس النوع أو بين نوعين مختلفين تابعين لنفس الجنس أو بين جنسين مختلفين كما حدث عند انتقال عامل المقاومة من ***Escherichia coli*** إلى ***Shigella dysenteriae*** أو إلى أنواع تابعة لأجناس أخرى مثل ***Klebsiella* & *Salmonella***.

وكما هو معروف فإن هذا الانتقال يتم بواسطة التزاوج **Conjugation** وهى أكثر الطرق انتشارا وقد ينتقل بواسطة التحول الوراثي **Transformation** أو بالاستقطاع **Transduction**.

وبتطور الدراسات الوراثية وجد أن عامل المقاومة **R-factor** يوجد في البلازميدات وهى عبارة عن أجزاء صغيرة من حمض **DNA** توجد خارج الكروموسوم وخارج النواة وتتناسخ ذاتياً **Self-replicating**.

ومقاومة الميكروب للكيماويات العلاجية موضوع له أهميته العلمية والتطبيقية وتجرى دراسات متعددة لمعرفة الطرق التي تسلكها الميكروبات لمقاومة تلك

الكيماويات وكيف نتغلب عليها من خلال المحاولات البحثية المستمرة لإنتاج كيماويات علاجية ذات فاعلية كبيرة ضد الميكروبات ومثال على ذلك محاولة إنتاج بنسلينات مخلقة معملياً لا تتأثر بإنزيم البنسلينيز.

ويمكن تقليل ظهور السلالات الميكروبية المقاومة للمضادات الحيوية من خلال ما يلى:

١-عدم الإسراف في استعمال المضادات الحيوية.

٢-استعمال الجرعة الكافية للقضاء على العدوى.

٣-الامتناع عن استخدام المضادات الشائعة الاستعمال في المنطقة لعلاج الأمراض المعدية المحلية.

٤-استعمال مخاليط المضادات الحيوية التي ثبت كفاءتها العلاجية.

٥-الاستمرار فى دعم الأبحاث العلمية التى تتناول مقاومة الميكروبات للكيماويات العلاجية مثل المضادات الحيوية ومركبات السلفا وذلك لإنتاج كيماويات علاجية ذات فاعلية كبيرة ضد الميكروبات المتحورة والعنيدة لفعل هذه المواد.

المـراجـــع

المراجع العربية

- أحمد السروى (٢٠٠٦): معالجة مياه الصرف الصحى وتشغيل المحطات، دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع- القاهرة.
- أسس علم الأحياء الدقيقة (٢٠٠٨): رضا احمد عبد المجيد بيومى- مكتبة الأنجلو المصرية.
- جابر زايد بريشة ، عادل محمود حماد ، مراجعة عبد الوهاب محمد عبد الحافظ (٢٠٠١),الميكروبيولوجيا الصناعية ، الدار العربية للنشر والتوزيع- القاهرة- ج. م. ع.
- راشد عبدالفتاح زغلول، حامد السيد أبوعلي، مراجعة إحسان احمد حنفي (٢٠١٤): ميكروبيولوجيا الأراضي ، هيئة دار الكتب والوثائق القومية بالقاهرة – جمهورية مصر العربية.
- سعد على زكى محمود ،عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى محمد مبارك(١٩٩٦): الميكروبيولوجيا التطبيقية – المكتبة الأكاديمية.
- الشحات محمد رمضان ، راوية فتحي جمال (٢٠٠٥): ميكروبيولوجيا التخمرات – دار الفكر العربى،٩٤ شارع عباس العقاد- مدينة نصر- القاهرة.
- الشحات محمد رمضان(٢٠٠٨): الميكروبات داء ودواء وغذاء – دار الفكر العربى،٩٤ شارع عباس العقاد- مدينة نصر- القاهرة.
- عبده السيد شحاته ، محمد نبيل إبراهيم المجدوب (٢٠٠٢): ميكروبيولوجى اللبن ومنتجاته ، المكتبة الأكاديمية – مصر.
- عبده السيد شحاته (١٩٩٧): تكنولوجيا الجبن المكتبة الأكاديمية،١٢١شارع التحرير، الدقى ، القاهرة.

المراجع الأجنبية

- Alexander, Martin (1980): Introduction to soil Microbiology, John wiley & sons.
- Roberts, D.(1995): Practical of Food Microbiology ,Public Health Laboratory Service, London ,UK .
- Schlegel, H . G. (1995): General Microbiology, Printed in Great Britain at the Univ, Press, Cambridge, UK.
- Clazer,A.N. and H,Nikaido (1998):Microbial Biotechnology, Fundamentals of Applied Microbiology,W.H,Freeman and Company, New York.
- Subba Rao, N. S. (1999): Soil microbiology ,Science Publishers, INC, U.S.A.
- Adams,M.R. and M.Moss(2000):Food Microbiology,2nd ed,Royal Society of Chemistry, London.
- David, P. (2004): Microbial Ecology of the soil and plant growth, Science Publishers, Inc, U.S.A.
- Elias, J.D.V.; J.K. Jansson and J.T. Trevors (2007): Modern Soil Microbiology, CRC Press, Taylor.